

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Zürich  
Direktor: Prof. H. Fischer

# Calebassen-Curare

Habilitationsschrift

der Medizinischen Fakultät der Universität Zürich  
zur Erlangung der Venia legendi für Pharmakologie

Vorgelegt von

Dr. med. et phil. II PETER G. WASER  
von Zürich

1953

Druck von Benno Schwabe & Co.  
Basel



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Zürich  
Direktor: Prof. H. Fischer

# Calebassen-Curare

Habilitationsschrift

der Medizinischen Fakultät der Universität Zürich  
zur Erlangung der Venia legendi für Pharmakologie

Vorgelegt von

Dr. med. et phil. II PETER G. WASER  
von Zürich

1953

Druck von Benno Schwabe & Co.

Basel



Erschienen als Supplementum VIII (Beilage zu Vol. 11 [1953], Fasc. 3)  
der «Helvetica Physiologica et Pharmacologica Acta»

## Inhalt

|                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Einleitung. . . . .                                                                                                                           | 5  |
| Geschichtliches . . . . .                                                                                                                     | 6  |
| Das Ausgangsmaterial für die Alkaloidgewinnung . . . . .                                                                                      | 14 |
| Botanische Zusammensetzung des Calebassencurare. . . . .                                                                                      | 16 |
| Chemische Kenntnisse . . . . .                                                                                                                | 19 |
| Pharmakologische Arbeiten . . . . .                                                                                                           | 25 |
| A. Froschtest . . . . .                                                                                                                       | 26 |
| B. Mäusetest. . . . .                                                                                                                         | 29 |
| C. Kaninchenversuche . . . . .                                                                                                                | 35 |
| D. Katzenversuche . . . . .                                                                                                                   | 37 |
| 1. Lähmungswirkungen auf die Muskulatur . . . . .                                                                                             | 38 |
| 2. Blutdruckwirkungen . . . . .                                                                                                               | 43 |
| 3. Ekg. und Herzfrequenz. . . . .                                                                                                             | 47 |
| 4. Wirkungen auf das autonome Nervensystem . . . . .                                                                                          | 49 |
| 5. Zentrale Wirkungen . . . . .                                                                                                               | 52 |
| 6. Resorption, Verteilung und Ausscheidung. . . . .                                                                                           | 54 |
| E. Untersuchungen an Organpräparaten. . . . .                                                                                                 | 64 |
| 1. Quantitative Erfassung der bei Fröschen durch Toxiferin, Curarin und<br>Calebassin bewirkten elektro-physiologischen Veränderungen . . . . | 64 |
| 2. Fixation der Alkaloide im Muskel . . . . .                                                                                                 | 67 |
| 3. Wirkungsmechanismus der Calebassenalkaloide . . . . .                                                                                      | 72 |
| Diskussion. . . . .                                                                                                                           | 75 |
| Zusammenfassung . . . . .                                                                                                                     | 78 |
| Résumé . . . . .                                                                                                                              | 79 |
| Summary . . . . .                                                                                                                             | 80 |
| Resumen . . . . .                                                                                                                             | 81 |



## Einleitung

*Curare* – ein Gift, das den südamerikanischen Indianern lautlosen, raschen Tod bedeutet, ein Wort des Schreckens für die spanischen Eroberer Amerikas, ein geheimnisvoller Stoff mit enormer Wirksamkeit für die europäische Gelehrtenwelt seit dem 17. Jahrhundert!

Die Entdeckung des neuen Kontinents jenseits des Ozeans durch *Columbus*, *Magelhães*, *Núñez de Balboa*, *Pizarro* u. a. brachte neben einer gewaltigen Ausweitung des Horizonts auch die Kenntnis von neuen Völkern, fremdartigen Gebräuchen und Waffen. Zu den Wundern der Neuen Welt, von denen die Eroberer erzählten, gehören neben dem sagenhaften Reichtum und den zivilisatorischen Leistungen der Einwohner auch geheimnisvolle Heilmittel und schreckliche Gifte, die zur Behandlung Kranker, als Genußmittel, Rauschgifte und Kampfmittel Verwendung fanden. Heute, bald 500 Jahre später, sind noch lange nicht alle Gebiete, alle vergangenen Epochen und Kulturen Südamerikas erforscht. Auch das Rätsel um die Herkunft, die Zubereitung, die Zusammensetzung und Wirkung des *Curare* ist nur zum Teil gelöst. Jahrtausende alte Überlieferung und ein sicherer Instinkt haben die «primitiven» Indianervölker dazu geführt, hochwirksame Stoffe aus uns heute noch größtenteils unbekannten Pflanzen, vielleicht auch Tieren, zur Vergiftung ihrer Jagd- und Kampfwaffen zu verwenden. Geheimnisvoll ist die Zubereitung. Immer seltener gelangen kleine *Curare*-proben aus dem Inneren der riesigen Urwaldgebiete des *Amazonas*, *Essequibo* und *Orinoko* in die Hände der weißen Kolonisten, obwohl heute noch Forschergruppen, die sich zu weit ins Innere vorwagen, gelegentlich von Indianern mit Giftpfeilen überfallen werden. Es bedarf der Unerschrockenheit missionierender Padres, um *Curare* von den wilden Stämmen im Tauschhandel zu erhalten.

Die fortschreitende Zivilisation verdrängt die alten Bräuche mehr und mehr. Die Feuerwaffe läßt die überlieferten Jagdmethoden, den Pfeil, die Lanze, in Vergessenheit geraten. Verhält es sich aber trotz unserer «fortschrittlichen» Kultur nicht so, wie ein Indianer um 1800 in Esmeralda (Orinoko) *Alexander von Humboldt* erklärte: «Ich weiß, die Weißen verstehen die Kunst Seife zu machen und das schwarze Pulver, bei dem das Üble ist, daß es Lärm macht und die Tiere verscheucht, wenn man sie fehlt. Das *Curare*, dessen Bereitung bei uns vom Vater auf den Sohn übergeht, ist besser als alles, was ihr dort drüben (Europa) zu machen wißt. Es ist der Saft

einer Pflanze, der ganz leise tötet, ohne daß man weiß, woher der Schuß kommt.»

Die Indianer haben ihr Geheimnis gut bewahrt. Erst heute lichtet sich das Dunkel um die Herstellung und die Art der verwendeten Pflanzen. Es sollte daher möglichst viel von diesen alten Kenntnissen gerettet werden, bevor sie völlig in Vergessenheit geraten. Aus diesem Grund wollen wir auf die Entdeckungsgeschichte des Curare in kurzem Abriß eingehen.

### Geschichtliches<sup>1</sup>

Die erste Begegnung der europäischen Welt mit den südamerikanischen Pfeilgiften und die Kenntnisse über Curare sind eng mit der Eroberungsgeschichte dieses Kontinents verknüpft. In den Berichten und Briefen der Chronisten und Priester, welche die Conquistadoren begleiteten, ist vieles durch die historische Größe des Augenblicks und die in den tropischen Breiten angeregte Phantasie, vielleicht auch durch politische Erwägungen übertrieben und unrichtig. Immerhin geben sie uns wertvolle Einblicke in Denken und Erkenntnis dieser ereignisvollen Zeit.

Der Name *Curare* muß eine spanische Wortschöpfung (durch *Acuña*?) sein. Der indianische Name des Giftes wechselt von Stamm zu Stamm: *Uiraëry* scheint «Vogeltöten» (*uira*: Vogel, *eor*: töten) zu bedeuten (*A. von Humboldt*). Aber auch zahlreiche andere Namen, worunter *Ticunas* (= schwarze Flüssigkeit, von *ticu*: Flüssigkeit, *una*: schwarz) wurden verwendet. Daraus entstanden verschiedene phonetische Modifikationen, die für die Weißen unter dem Begriff Curare zusammengefaßt wurden.

*Pietro Martyr D'Anghera*, ein Priester am spanischen Hof, berichtet in seinem Sammelwerk «*De orbe nova*» (1516) als erster über die Eroberung der Neuen Welt, und darunter von der raschen tödlichen Wirkung vergifteter Pfeile, die von den Indianern bei einem Überfall auf spanische Soldaten der ersten Columbus-Expedition (1492) in *Santa Cruz* verwendet wurden:

«Zwei Tage wurden in *Santa Cruz* zugebracht, wo 30 Spanier von einem Versteck aus sahen, wie sich ihnen ein entferntes Kanu näherte, in dem 8 Männer und gleichviel Frauen waren. Auf ein Signal hin fielen sie über das Kanu her. Wie sie sich näherten, ließen Männer und Frauen mit großer Geschwindigkeit und Treffsicherheit einen Schwarm von Pfeilen fliegen. Bevor die Spanier Zeit hatten sich mit den Schildern zu decken, wurde einer unserer Männer, ein Galizier, durch eine Frau getötet, und ein

---

<sup>1</sup> Vgl. auch *Boehm R.*: Curare und Curarealkaloide, Heffters Hdb. der experimentellen Pharmakologie, Berlin 1920; *Lewin L.*: Die Pfeilgifte, Leipzig 1923; *McIntyre A. R.*: Curare, its History, Nature and Clinical Use, Chicago 1947; *Prescott W.*: Entdeckung und Eroberung Mexikos, Entdeckung und Eroberung Perus, Gyr Verlag, Baden/Zürich; *Paris R.*: Les Curares I: Historiques et origines botaniques, Ann. pharmac. franç. 7, 346–353 (1949); *Cheymlol J.*: Curares naturels et Curares de synthèse, dans *Hazard R.*: Actualités pharmacologiques, Masson, Paris 1949.

anderer durch einen Pfeil derselben Frau schwer verwundet. Es wurde festgestellt, daß die vergifteten Pfeile eine Flüssigkeit enthielten, die ausfloß, wenn die Spitze abbrach.»

In den nämlichen Briefen sind auch Angaben über die Verwendung verschiedener Pfeilgifte zu finden, die durch Extraktion von Pflanzen und Hölzern erhalten werden. Kauterisierung sollte die Vergiftung verhindern. Den Eingeborenen war anscheinend auch ein Antidot bekannt. Über die Herstellung verbreitet *Peter Martyr* im gleichen Werk eine Sage, die später von andern Erzählern übernommen wurde: Alte Weiber besorgten das Kochen der Giftsalbe aus einer Mischung von Ameisenköpfen, Skorpionschwänzen und Baumsaft, wobei sie die entstehenden Dämpfe bei richtiger Zusammensetzung beinahe tötete. Das Gift taugte nichts, wenn diese Frauen nach 2 Tagen nicht bewußtlos am Boden lagen. Sie würden in diesem Fall streng bestraft und das Gift als wertlos weggeworfen. Wahrscheinlich handelt es sich eher um einen magischen Ritus als um eine Begleiterscheinung (Kohlenoxydvergiftung?), die zur Giftzubereitung gehört.

*Ovieda y Valdes* (*Historia general de las Indias*, Madrid 1851) beschrieb 1535 als erster Pfeile aus dem Mündungsgebiet des *Orinoko*, die aus leichtem, dünnem Schilfrohr hergestellt waren und als Spitze oft scharfe Fischzähne aufwiesen. Das daran haftende Curare glich einer pechartigen, schwarzen Paste. Die geringste Verletzung damit war tödlich.

*Hernando Cortez* machte bei der Eroberung Mexikos (1518) von den Erfahrungen der früheren Entdecker Gebrauch, indem er die Wämse seiner Soldaten mit Baumwolle polstern ließ, um sie gegen die Pfeile der wilden Aztekenstämme zu schützen.

Von der Weltumseglung *Magelhães* berichtet dessen Freund und Begleiter *Antonio Pigafetta* (*Navigation et decouvrement de la Indie superieure*), wie 1520 in Patagonien (Argentinien) ein Soldat durch einen vergifteten Pfeil innerhalb kurzer Zeit getötet wurde:

«Zwei der Riesen, die ziemlich weit weg waren, schossen Pfeile auf unsere Männer, und auf diese Art kämpfend, durchbohrte einer der Riesen den Schenkel eines unserer Männer, wodurch er sofort starb.»

Auch *Gonzalo Pizarro*, der Eroberer Perus, gelangt nach Überschreitung der Anden 1540 ins Amazonasgebiet und damit in den Bereich von Indianerstämmen, die Curare verwendeten. Die Soldatenschar seines Begleiters *Francisco de Orellana* wurde auf der Fahrt den Fluß hinunter öfters mit Giftpfeilen beschossen, so daß sie ihre selbst gebaute Brigantine zum Schutz mit Bullwerken versehen mußten. Da sich Indianerfrauen durch besondere Kampflust auszeichneten, benannten sie den Strom *Amazonas*. Nach *Garcillasso de la Vega* (*The Royal Commentaries of the Incas*, Lisbon 1609) wurden in Peru verschiedene Gifte verwendet, von denen die einen rasch, andere wieder langsam töteten. *Chantre y Herrera* (*Historia general de las Indias occidentales*, Madrid 1601) zählt über 20 Bestandteile des immer tödlichen Giftes, darunter große behaarte Spinnen, Fledermausflügel, Kröten, Schlan-

genschwänze, giftige Seefische, schwarze Ameisen, übelriechende Wurzeln und Pflanzen, auf.

Der Jesuitenmissionar *D'Acuña* beschreibt in seinem Buch «Nuevo descubrimiento del gran rio de las Amazonas» (1641) die Waffen der Amazonasstämme eingehend:

«Einige der dortigen Stämme bedienen sich der Bogen und Pfeile, die wegen ihrer Kraft und Schnelligkeit ihrer Wirkung von allen Waffen am meisten geschätzt werden. Es ist ein Überfluß an giftigen Pflanzen im Land vorhanden, aus denen manche ein Pfeilgift herstellen. Kaum hat ein damit versehener Pfeil eine blutige Wunde gemacht, als auch schon aus dem Verwundeten das Leben entflieht.»

Mit ungläubigem Staunen las die europäische Welt die phantastische Beschreibung der Curarewirkung durch *Sir Walter Raleigh* in seinem 1596 erschienen Bericht über «The Discovery of the Rich and Beautiful Empire of Guiana»:

«... die vierten nennen sich *Aroras*, schwarz wie Neger aber mit glattem Haar, und sind sehr tapfere, oder eher verzweifelte Leute und haben das stärkste und gefährlichste Gift von allen Völkern an ihren Pfeilen, von dem ich etwas sprechen will. Es gab nichts, worüber ich neugieriger war, als die wahren Heilmittel gegen diese vergifteten Pfeile heraus zu finden. Denn abgesehen davon, daß die Wunde tödlich ist, leiden die Betroffenen an den unerträglichsten Schmerzen der Welt und erdulden den furchtbarsten und beklagenswertesten Tod. Manchmal sterben sie in starkem Wahnsinn, manchmal fallen ihre Eingeweide aus ihrem Leib hervor und sind sofort verfärbt, so schwarz wie Pech, und riechen so ekelhaft, daß niemand es aushalten kann sie zu pflegen.

Einige der Spanier wurden bei gewöhnlichen Wunden durch die üblichen vergifteten Pfeile mit Knoblauchsaff geteilt: Aber dies sei eine wichtige Regel für alle, die nach Indien, wo vergiftete Pfeile gebraucht werden, reisen wollen, daß sie nicht trinken sollen! Denn wenn sie irgendwelche Flüssigkeit in den Körper aufnehmen, wozu sie durch eine eigenartige Trockenheit verleitet werden, ich sage, wenn sie trinken bevor die Wunde verbunden ist oder bald danach, dann gibt es keinen anderen Weg als sofortigen Tod.»

Auch zahlreiche andere *Antidote*, die wirksam sein sollten, wurden angegeben: Zucker, Salz- oder Seewasser, Urin, Tabaksaft, auch Sublimat. Die ersteren wurden eingenommen, allerdings ohne Erfolg, wie verschiedene Tierversuche noch in der damaligen Zeit zeigten; Tabaksaft und Sublimat dienten zur lokalen Wundbehandlung. Am wirksamsten erwies sich frühzeitiges Ausschneiden oder Ausbrennen der meist oberflächlichen Wunden und Abbinden der verletzten Extremität.

Der spanische Jesuitenpater *José Gumilla* erzählt von seinem langjährigen Aufenthalt im Orinokogebiet (El Orinoco Ilustrado, 1741):

«Ein Soldat namens *Francisco Macias* gab mir als erster Kunde vom augenblicklichen Tod durch Curare. Ich enthielt mich eines Urteils, bis ich selber Erfahrung hatte.

Es gab sich, daß ein Rudel von gelben Affen (*arabatas*, große Lieblingsspeise der Indianer) sich in der Nähe aufhielt. Jeder Indianer schoß davon soviel er konnte, ich aber nahm einen von ihnen beiseite, und bat ihn, daß er einen Affen, der auf einem Palmenblatt saß, und sich mit einer Hand am oberen Zweig festhielt, mit dem Pfeil

verletzte; das tat er. Die Pfeilspitze blieb in der Brust stecken und der Affe hob den rechten Arm, um sie herauszureißen, wie sie das mit nicht vergifteten Pfeilen tun, doch im selben Moment, und ohne daß er die Bewegung hätte zu Ende führen können, fiel er tot hin. Ich eilte zu ihm, und da ich ihn ohne Wärme am Körper fand, ließ ich ihn öffnen von oben bis unten (oh, Wunder der dunkeln Dinge, von denen wir nichts wissen) ich fand keine Spur von Wärme, nicht einmal im Herzen. Um dieses herum war viel geronnenes Blut, schwarz und kalt, im übrigen Körper aber war fast kein Blut, und das wenige, das ich in der Leber fand, war gleich wie jenes vom Herzen. Äußerlich hatte das Tier einen kalten Schaum von orange-gelber Farbe, und ich sah daraus, daß die unglaublich große Kälte des Curare das Blut augenblicklich gefrieren läßt, so daß es, indem es seinen Gegner erblickt, sich zum Herzen flüchtet, und auf diese Weise mithilft das Lebende zu töten, indem es ihm das Herz erstickt.

... Curare kennt weder Heilung noch Antidot, noch läßt es Zeit, um Gott anzurufen. Ich sage, kein Antidot, denn obwohl ein unschuldiger Jüngling *Padre Juan Rivero* verriet, daß jener welcher Salz im Munde hat, vom Gift verschont bleibt, was dieser nach verschiedenen Versuchen mit Tieren richtig fand, bleibt das Mittel doch für den Menschen unverwendbar, denn wer möchte lange Zeit Salz im Munde zu tragen, und um es aus dem Fäßchen zu holen, läßt ihm das Gift nicht Zeit.

... Es kommt von einzigartigen Wurzeln vom selben Namen, welche niemals Blätter oder Blüten tragen, und die ihre Bosheit im faulen und verwesenen Boden von Lagunen ohne Abfluß verbergen.

Die *Caberre* Indianer graben diese grau-gelben Wurzeln aus, waschen, zerkleinern und zerstampfen sie, und legen sie in große Töpfe über kleines Feuer, suchen für diese Arbeit die unnützte Alte des Dorfes, und wenn diese von den Dämpfen vergiftet tot hinfällt, wie das regelmäßig geschieht, ersetzen sie sie durch eine andere gleicher Beschaffenheit, ohne daß sich die Alten noch die Nachbarn, noch die Verwandten deswegen widersetzen, denn dies ist das gewöhnliche Los der Alten.

... In einem bestimmten Moment ruft die unglückliche Köchin die Dorfältesten und Krieger herbei, sowie alle Leute vom Dorf, um zu untersuchen, ob das Curare stark genug sei. Der Häuptling netzt die Spitze eines Stöckchens mit Curare; gleichzeitig ritzt sich ein Jüngling die Haut mit einem spitzen Knochen am Schenkel oder Arm, und wenn das Blut aus der Wunde tritt, nähert der Häuptling den Stab ohne zu berühren, denn täte er das, und das Blut flösse zurück, so wäre der Jüngling verloren. Fließt das austretende Blut in die Wunde zurück, so ist das Curare fertig, bleibt es stehen so braucht es nicht mehr viel, fließt es jedoch auf natürliche Weise fort, so muß weiterhin stark gefeuert werden, und die arme alte Frau fährt in ihrer tödlichen Arbeit fort, bis die Abneigung mit welcher das Blut vor seinem Widersacher zurückflüchtet, zeigt, daß das Curare seine nötige Wirksamkeit hat.

... Das Gift bleibt jahrelang wirksam. Zieht ein Indianer einen vergifteten Pfeil aus dem Köcher um zu schießen, so benetzt er ihn erst mit der Zunge, um seine Wirksamkeit zu erhöhen.»

Über die Zusammensetzung aus pflanzlichem Material wurde erst später einiges wenig bekannt. *La Condamine* (Relation d'un voyage fait dans l'intérieur de l'Amerique méridionale, Paris 1745) stellte fest, daß im Pfeilgift der *Ticunas*, eines Stammes im Gebiet des *Marañon* (Peru) 30 verschiedene Wurzeln und Kräuter, darunter Lianenarten, enthalten sind. Eine bessere und genauere Kenntnis der Zusammensetzung und Herstellung von Curare bei den *Accawau*-Indianern (Guayana) gab 1769 *Bancroft* (An Essay on the Natural History of Guiana and South America).

«Nach dem folgenden Rezept wird das *Accawau*-Pfeilgift meistens hergestellt. Ich habe es von mehreren Medizinmännern zu verschiedenen Zeiten erhalten, und immer

stimmten sie genau in Zahl und Identität der Ingredientien überein, aber mit einigen Unterschieden in Bezug auf die Mengen, für welche sie keine Methode zur genauen Messung hatten.

Nimm sechs Teile der *Woorara*-Wurzel, zwei Teile der *Warracobba*-Rinde, je ein Teil der Wurzelrinde der *Couranapi*, *Baketi* und *Hatchybaly*.

All das muß fein zerstoßen und in einem indianischen Gefäß mit Wasser überschichtet werden. Der Topf wird dann über ein kleines Feuer gesetzt, so daß das Wasser für eine Viertelstunde kocht. Nachher wird der Saft von Hand aus der Rinde gepreßt, wobei die Haut nicht verletzt sein darf. Danach wird die Rinde weggeworfen und der Saft über einem mittleren Feuer bis zur Teerdicke eingedampft. Flache Stücke *Cokarito*holz werden darin gekocht, woran das abgekühlte Gift wie Gummi von braunroter Farbe klebt. Diese Holzstücke werden dann in breite hohle Stöcke, welche an den Enden mit Fell verschlossen sind, gesteckt und auf diese Weise aufbewahrt (*Tubo-Curare*!). Wenn dann eine Pfeilspitze vergiftet werden soll, wird das Gift entweder in Wasser aufgelöst und die Spitze eingetaucht, oder das Holz woran es klebt wird über ein Feuer gehalten bis es schmilzt und damit die Pfeilspitzen beschmiert. Die kleinste Menge dieses Giftes durch eine Wunde in die roten Blutgefäße eines Tieres gebracht, führt in weniger als einer Minute ohne große Schmerzen oder Unwohlsein zum Tod, obschon geringe Konvulsionen kurz vor dem Ende zu bemerken sind.»

Die ersten genauen Berichte über die Curarebereitung stammen aus einer viel späteren Zeit. *Alexander von Humboldt* bereiste Südamerika in den Jahren 1799 1804 und hatte 1800 in *Esmeralda* am oberen Orinoko als erster Europäer Gelegenheit, der Herstellung von Curare durch die Indianer beizuwohnen. Seine lebhaften und anschaulich dargestellten Beobachtungen (*A. von Humboldt* und *A. Bonpland*: *Voyages aux régions équinoxiales du nouveau continent*, 1807) sollen auszugsweise wiedergegeben werden:

«*Esmeralda* ist berühmt als der Ort, wo am besten am *Orinoko* das starke Gift bereitet wird, das im Krieg, zur Jagd und, was seltsam klingt, als Mittel gegen gastrische Beschwerden dient ...

Als wir nach *Esmeralda* kamen, kehrten die meisten Indianer von einem Ausflug ostwärts über den *Rio Padamo* zurück, wobei sie eine Schlingpflanze, welche das Curare gibt, gesammelt hatten. Diese Heimkehr wurde durch eine Festlichkeit begangen, die unseren Ernte- und Weinlesefesten entspricht. Die Weiber hatten viel gegorenes Getränk bereitet und zwei Tage lang sah man nur betrunkene Indianer ...

Das Glück wollte, daß wir einen alten Indianer trafen, der weniger betrunken als die andern und beschäftigt war, das Curaregift aus den frischen Pflanzen zu bereiten. Der Mann war der Chemiker des Ortes. Wir fanden bei ihm große tönernen Pfannen zum Kochen der Pflanzensäfte, flachere Gefäße, die durch ihre große Oberfläche die Verdunstung befördern, dütenförmig aufgerollte Bananenblätter zum Durchsiehen der mehr oder weniger faserige Substanzen enthaltenden Flüssigkeiten. Die größte Ordnung und Reinlichkeit herrschten in dieser zum chemischen Laboratorium eingerichteten Hütte. Der Indianer, der uns Auskunft erteilen sollte, heißt in der Mission der Giftmischer. Er hatte das steife Wesen und den pedantischen Ton, den man früher in Europa den Apothekern zum Vorwurf machte ...

Das Schlinggewächs (*bejuco*), aus dem man in *Esmeralda* das Gift bereitet, heißt hier wie in den Wäldern bei *Javita*. Es ist der *Bejuco de Mavacure*, und er kommt östlich von der Mission am linken Ufer des *Drinow*, jenseits des *Rio Amaguaca* im granitischen Bergland von *Guayana* und *Yumariquin* in Menge vor. Obgleich die *Bejuco*-bündel, die wir im Haus des Indianers fanden, gar keine Blätter mehr hatten, blieb uns doch kein Zweifel, daß es dasselbe Gewächs aus der Familie der *Strychneen* war

(*Aublets Rouhamon* sehr nahestehend), das wir im Wald bei *Pimichin* untersucht. Der *Mavacure* wird ohne Unterschied frisch oder seit mehreren Wochen getrocknet verarbeitet. Der frische Saft der Liane gilt nicht für giftig; vielleicht zeigt er sich nur wirksam, wenn er stark konzentriert ist. Das furchtbare Gift ist in der Rinde und einem Teil des Splints enthalten. Man schabt mit einem Messer 4–5 Linien dicke *Mavacure*zweige ab und zerstößt die abgeschabte Rinde auf einem Stein, wie er zum Reiben des Maniokmehls dient, in ganz dünne Fasern. Da der giftige Saft gelb ist, so nimmt die ganze faserige Masse die nämliche Farbe an. Man bringt dieselbe in einen 9 Zoll hohen, 4 Zoll weiten Trichter. Diesen Trichter strich der Giftmeister unter allen Gerätschaften des indianischen Laboratoriums am meisten heraus. Er fragte uns mehrere Male, ob wir dort drüben (Europa) jemals etwas gesehen hätten, das seinem *Embudo* gleiche? Es war ein dütenförmig aufgerolltes Bananenblatt, das in einer anderen stärkeren Düte aus Palmblättern steckte; die ganze Vorrichtung ruhte auf einem leichten Gestell von Blattstielen und Fruchtspindeln einer Palme. Man macht zuerst einen kalten Aufguß, indem man Wasser an den faserigen Stoff, die gestoßene Rinde des *Mavacure*, gießt. Mehrere Stunden lang tropft ein gelbliches Wasser vom *Embudo*, dem Blattrichter, ab. Dieses durchsickernde Wasser ist die giftige Flüssigkeit; sie erhält aber die gehörige Kraft erst dadurch, daß man sie wie die Melasse in einem großen tönernen Gefäß abdampft. Der Indianer forderte uns von Zeit zu Zeit auf, die Flüssigkeit zu kosten; nach dem mehr oder minder bitteren Geschmack beurteilt man, ob der Saft eingedickt genug ist. Dabei ist keine Gefahr, da das *Curare* nur dann tödlich wirkt, wenn es unmittelbar mit dem Blut in Berührung kommt. Gleicherweise ist der durch das Erwärmen erzeugte Dampf nicht schädlich trotz geteilter Meinung der Missionare am *Orinoko*.

Der konzentrierte Saft des *Mavacure* ist nicht dick genug, um an den Pfeilen zu kleben. Um dem Gift Körper zu geben, setzt man dem eingedickten Aufguß einen andern sehr klebrigen Pflanzensaft bei, der von einem Baum mit großen Blättern, genannt *Kiracaguero*, kommt. Dieser Baum wächst weit weg von *Esmeralda* und war zur Zeit ohne Blüten und Früchte wie der *bejuco de mavacure* und wir konnten ihn botanisch nicht identifizieren. Sobald der klebrige Saft des *Kiracaguero*-Baumes dem eingedickten, kochenden Giftsaft zugegossen wird, schwärzt sich dieser und gerinnt zu einer Masse von der Konsistenz des Teers oder eines dicken Sirups. Diese Masse ist nun das *Curare*, wie es in den Handel kommt ...

Das *Curare* wird in den Früchten der *Crescentia* (Calebassen) verkauft; da aber die Bereitung desselben in den Händen weniger Familien ist und an jedem Pfeil nur unendlich wenig Gift haftet, so ist das *Curare* bester Qualität, das von *Esmeralda* und *Mandavaca*, sehr teuer. Ich sah für zwei Unzen 5–6 Franken bezahlen. Getrocknet gleicht der Stoff dem Opium; er zieht aber die Feuchtigkeit stark an, wenn er der Luft ausgesetzt wird. Er schmeckt sehr angenehm bitter und *Bonpland* und ich haben oft kleine Mengen verschluckt. Gefahr ist keine dabei, wenn man nur sicher ist, daß man an den Lippen oder am Zahnfleisch nicht blutet.»

Sehr bald geriet jedoch auch in *Esmeralda* die Kunst der Giftbereitung in Vergessenheit. Schon im Jahre 1839 fand *Robert Schomburgk* (On the Urari, Ann. a. Mag. Nat. Hist. 1841; Reisen in Guiana und am Orinoko, Leipzig 1841) am gleichen Platz nur noch eine Familie, die ihr Pfeilgift von andern Stämmen eintauschte. Er konnte jedoch an den Quellen des *Rio Branco* (Guayana) den *Makuschi*-Indianern beim Sammeln der Pflanzen für die Herstellung des äußerst wirksamen *Urari* zuschauen. Nach einer beschwerlichen Expedition an den Sammelplatz wurde ihm (1835) zum erstenmal eine Liane gezeigt, aus der der wirksamste Bestandteil des *Urari* gewonnen wurde und die er *Strychnos toxifera* benannte. *Humboldt* hatte sich im Genus der Pflanze,

die er nie in der Natur wachsend sah, nicht getäuscht. Bei dieser und bei einer zweiten Expedition (1837) den *Essequibo*-Fluß hinauf fand *Schomburgk* diese Liane nie mit Blüten, sondern nur mit großen, apfelförmigen Früchten. Die Rinde kann jedoch nur in einem bestimmten Saftzustand zur Curarebereitung dienen. Da die Herstellung Geheimnis bleiben sollte, untersuchte *Schomburgk* selbst die Wirkung eines wäßrigen Extraktes seiner Rindenproben bei zwei Hühnern, die beide in 30 Minuten starben. Erst *Richard Schomburgk*, sein Bruder, konnte einige Jahre später am gleichen Ort der Giftbereitung beiwohnen (On the Urari, Adelaide 1879). Es wurden dazu die bekannte *Strychnos toxifera* und andere *Strychnos*arten verwendet. Der ausführlichen Beschreibung ist zu entnehmen, daß etwa die Hälfte des Rohmaterials Rinde der *Str. toxifera*, ein Viertel der *Str. cogens* und *pedunculata* (*Schomburgkii*), dazu Wurzeln von *Tarireng*, *Tararema*, *Maramu* (wahrscheinlich auch *Strychnos*arten) und *Manuca*-Holz (*Xanthoxyleae*) ist. Nachdem diese Wurzeln und Rinden in einem Holzmörser zerstoßen waren, wurden sie ohne *Maramu* einen Tag lang in Wasser gekocht und der entstehende Schaum sorgfältig abgeschöpft. Die auf einen Siebentel eingedickte Flüssigkeit hatte eine kaffeebraune Farbe. Sie wurde durch einen Trichter mit Gras filtriert und das Filtrat in einer flachen Schüssel 3 Stunden der Sonne ausgesetzt. Nach Zusatz des *Maramu*-Wurzelsaftes erstarrte es zu einer gallertigen Masse und wurde durch weiteres Trocknen an der Sonne weiter eingedickt. Erst in diesem Zustand wurde das Gift in Calabassen oder kleine irdene Töpfe abgefüllt. Der Hersteller vergewisserte sich dann von der außerordentlichen Stärke durch kleine Verletzungen an Eidechsen, Ratten und Hühnern mit einer vergifteten Nadel. Alle starben innerhalb einiger Minuten. Nach Meinung der Indianer behält das Gift die volle Wirkungsstärke nur zwei Jahre. Es kann dann durch Zusatz des Wurzelsaftes aus *Manihot utilissima* regeneriert werden.

*Carl Ferdinand Appun* konnte diese Angaben von *Richard Schomburgk* einige Jahre später nach eigenen Erfahrungen beinahe wörtlich bestätigen. *Strychnos toxifera* bildete wieder neben 12 anderen Ingredienten den Hauptbestandteil des Curare.

Es sei hier noch die neuzeitliche Schilderung eines Teilnehmers der brasilianisch-kolumbianischen Grenzziehungskommission, des deutschen Pharmakologen *F. W. Freise* (1933 und 1936), über die Curarebereitung wiedergegeben:

«Zur Curareherstellung werden Rinden verschiedener *Strychnos*arten verwendet. Bei den *Uaupès*-Indianern am *Araraquara*-Gebirge, einem der Stämme, die als hervorragende Giftbereiter gelten, kommen vornehmlich *Strychnos letalis*, *Str. Icaja*, *Str. lanceolaris*, zum Teil in bis 200 m langen Schlingpflanzen mit weitreichender Verzweigung an den riesenhaften Urwaldbäumen vor. Längsstreifen der Rinde von 3–4 Zoll Breite und 20–30 Zoll Länge, schachbrettähnlich aus den mittleren Stammteilen entnommen (etwa 40–70 kg je Stamm und Ernteperiode, d. h. je Trockenzeit) werden in Holztrögen in Wasser eingeweicht, wobei das Korkgewebe sorgfältig von den andern Schichten getrennt wird; nur das erste wird nach Trocknen weiterverarbeitet.



Abb. 1. Indianer jagen mit Blasrohr und Giftpfeil nach Affen und Vögeln.

In Hartholzmörsern wird mit hölzernen Reibkeulen in tagelanger Arbeit ein grobes Mehl hergestellt; die Tagesleistung eines Mörsers macht kaum mehr als 200 g aus. Jedes an einem Tage in einem Mörser hergestellte Rindenpulver wird für sich getrennt weiterverarbeitet, indem das Pulver langsam mit warmem Wasser in hölzernen Gefäßen ausgezogen wird, wobei die (vielleicht 70–80° C betragende) Extraktionstemperatur durch hineingelegte vorgewärmte Steine erzielt wird. Von einem Kochen ist nie die Rede. Die Wassermenge für obiges 200 g Quantum beträgt etwa 2 l. Die Behandlung des Rindenquantums mit Wasser dauert etwa 4 Tage. Der Inhalt des Topfes stellt nun eine rotbraune bis braunschwarze, entfernt nach altem Kaffeesatz riechende, durchdringend bittere Flüssigkeit dar. Durchsiehen durch ein Bastfilter trennt diese vom Rindenrückstand. In einem, mehrere Tage dauernden, sehr schonend Wärme zuführenden Konzentrationsprozeß wird die Flüssigkeit zur Sirup konsistenz eingedickt. Nach Herstellung wird sie in Flaschenkürbisse abgefüllt.»

Von zahlreichen Indianerstämmen wird auch in der heutigen Zeit Curare zur Jagd verwendet (Abb. 1)<sup>2</sup>.

<sup>2</sup> Mit Erlaubnis des Verlages Albert Müller A.G., Rüschlikon/Zürich, aus *Nielsen*: «Im Banne der grünen Hölle.»

## Das Ausgangsmaterial für die Alkaloidgewinnung

*Boehm* teilte die verschiedenen Curarearten nach ihrer Verpackungsart ein:

1. *Tubocurare*, das hauptsächlich im Amazonasgebiet in Bambusrohren gehandelt wird. Als Hauptalkaloid enthält es nach *Dutcher* (1951) die in *Chondrodendron tomentosum* vorkommenden wirksamen Alkaloide *d-Tubocurarinchlorid*, *d-Chondrocurarinchlorid*, *l-Tomentocurarin* sowie die tertiären Basen *l-Curarin*, *d-Chondrocurarin*, *d-Isochondrodendrin*.

2. *Topfcurare* ist in unglasierten, oft auch ungebrannten Tontöpfen enthalten. Schon *Boehm* isolierte daraus die schwach wirksamen Alkaloide *Protocurarin*, *Protocuridin* und *Protocurarin*. *King* (1937) stellte für sie die chemisch nahe Verwandtschaft mit dem *Tubocurarin* und *Isochondrodendrin* fest. Stammpflanzen sind daher wahrscheinlich *Chondrodendron*-, eventuell auch *Cocculus*arten der Menispermaceen.

3. *Calebassencurare* zeichnet sich durch die viel stärkere Wirksamkeit und Verpackung in Flaschenkürbissen aus. *H. Wieland* beschreibt auch die ausgehöhlte Frucht der *Str. toxifera* als Behälter. Es stammt hauptsächlich aus dem mittleren *Orinoko*- und oberen *Amazonas*gebiet. Stammpflanzen sind *Strychnos*-, eventuell auch *Chondrodendron*arten.

4. *Lewin* beschrieb ein von den *Ticuna* (oberer Amazonas) stammendes Curare, das in *Bastsäckchen* verpackt war. Es scheint ähnlich zusammengesetzt zu sein wie das *Calebassencurare*.

Schon *Lewin* übt in seinem Buch über die Pfeilgifte Kritik an dieser Einteilung, da der Inhalt der verschiedenen Behälter je nach Provenienz wechselnd zusammengesetzt ist und einzelne Alkaloide in den verschiedenen Gruppen gleichzeitig festgestellt wurden. So besitzen wir „*Calebassencurare*“, das in Töpfen verpackt ist (Abb. 3). Es wird tatsächlich schwer sein auch nur zwei Calebassen mit gleichem Inhalt zu finden. *Lewin* schlug daher eine Einteilung nach der Curarefarbe vor:

a) *lehmfarbiges bis braunes Curare*, das meist in Tuben oder Töpfen enthalten ist und den Stämmen nach von der südlichen Seite des Äquators stammt.

b) *braunschwarzes bis schwarzes Curare* aus Calebassen und Töpfen, das in *British Guayana*, also einer Region nördlich der Linie *Yapura*, *Rio Negro*, *Amazonas* benützt wurde.

Dazu ist zu bemerken, daß die einzelnen bekannten Alkaloide weiße, gelbe bis rote Färbung aufweisen und daß die Schwärzung wahrscheinlich durch Zersetzungsprodukte und die zum Gebrauch wichtigen Zusätze bedingt sind. Vielleicht wird es in der Zukunft bei eingehender chemischer Kenntnis der Inhaltsstoffe und deren Stammpflanzen besser sein, wenn an Stelle dieser phänomenologischen Benennung nach dem Inhalt von einem *Strychnos*-, *Chondrodendron*- oder *Erythrinacurare* gesprochen wird.

Das vom chemischen Institut der Universität Zürich<sup>3</sup> und uns unter-

<sup>3</sup> In Zürich haben vor allem *P. Karrer* und *H. Schmid* (Chemisches Institut der Universität) seit 1946 die Isolierung von Curarealkaloiden aus Calebassen und be-

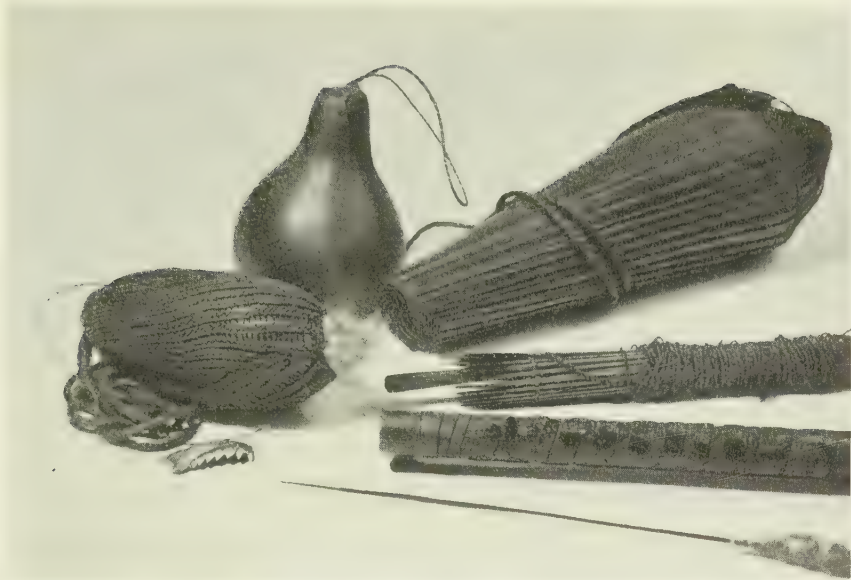


Abb. 2. Calabasse (Flaschenkürbis) mit Curare, Blasrohr, Pfeilen (Baumwolle an einem Pfeilende), Köcher aus Palmblatt, Baumwollbehälter mit Fischzähnen zum Baumwollzupfen.

suchte Calabassenmaterial bestand aus verschiedenen Mustern, von denen sich nur wenige in der Originalpackung (Calabassen oder Tontöpfen) befanden. Es stammte ähnlich dem von *H. Wieland* untersuchten Material aus dem mittleren und oberen *Orinokogebiet* (*Urbana, Venezuela*), vom oberen *Amazonas* (*Rio Negro, Rio Uaupés*) und aus *Kolumbien*.

Die in Abb. 2 dargestellte Calabasse enthält Curare, das im Flaschenkürbis zu einer festen Masse eingetrocknet ist. Der Behälter ist mit Bast- oder Holzzapfen verschlossen. Die Tontöpfe (Abb. 3) enthalten eine schwarze, klebrige, visköse Flüssigkeit, die wohl eher dem ursprünglichen Curare entspricht. Die Knochenspitze des Bogenpfeiles und der dünne, spitzige Blasrohrpfeil können leicht mit diesem Curare bestrichen werden. Die Töpfchen sind mit Holzzapfen versehen, oder mit Tuchfetzen bedeckt und verschnürt.

stimmten Pflanzen unternommen. Das Ausgangsmaterial wurde in verdankenswerter Weise von *Padre Antonio Giaccone* (Brasilien), Herrn Dr. *Saemann* (Schönenwerd), den Firmen *F. Hoffmann-La Roche* (Basel), *Produtos Roche S.A.* (Rio de Janeiro) und *Cortume Carioca* (Rio de Janeiro) zur Verfügung gestellt. Die eingehende pharmakologische Bearbeitung dieser neuen Alkaloide ist uns seit 1950 überlassen. Die enge Zusammenarbeit zwischen den beiden Instituten wird jetzt durch die *Fritz-Hoffmann-La Roche-Stiftung* in großzügiger Weise unterstützt. Wir möchten daher an dieser Stelle für die Förderung unserer Arbeit durch diese Stiftung wie allen Mitarbeitern am Chemischen und Pharmakologischen Institut der Universität Zürich herzlich danken. Unsere Resultate sind als Ergebnis dieser Zusammenarbeit zu betrachten.



Abb. 3. Tontöpfe mit Curare, Bogenpfeil mit Knochenspitze und hölzerner Blasrohrpfeil.

Die bis jetzt untersuchten Curareproben waren im Maustest (s. später) verschieden stark wirksam und zeigten papierchromatographisch einen unterschiedlichen Alkaloidgehalt (Tab. 1). Vier der Calebassen waren in Zusammensetzung und Mengenverhältnis der Alkaloide ähnlich wie das nicht verpackte Curarematerial (N I N VII). Auch drei Tontöpfchen enthielten beinahe die gleichen Alkaloide, mit Unterschieden in der Fluorocuringruppe. In zwei Töpfen waren zudem zwei noch unbekannte neue Alkaloide enthalten (*Kebrle, Schmid, Waser und Karrer, 1953*).

### Botanische Zusammensetzung des Calebassencurare

Calebassencurare gilt, wie auch dem vorangehenden Abschnitt zu entnehmen ist, als wirksamstes Pfeilgift. Zur Erforschung aller Inhaltsstoffe wäre es wesentlich, die für die Herstellung verwendeten Pflanzen zu kennen. Dadurch könnte die Isolierung größerer Alkaloidmengen ohne die mühsame Trennung des Curaregemisches direkt aus den Stammpflanzen vorgenommen werden. Leider haben sich gerade hier die botanischen Kenntnisse gegenüber den ersten Untersuchungen durch *A. von Humboldt* und die Gebrüder *Schomburgk* nicht wesentlich vermehrt, so daß die Zusammensetzung des Calebassenmaterials immer noch ein nur teilweise gelöstes Rätsel ist.

Für das Hauptalkaloid *Curarin* fehlte bis vor kurzem jegliche Vermutung über die Stammpflanze. Es konnte nun endlich papierchromatographisch in der Rinde von *Strychnos Mutscherlichii* Rich. *Schomburgk* neben *Fluoro-*

Tabelle 1

| Muster                         | Ver-<br>packung | HD. Dosis<br>der<br>Cale-<br>bassen <sup>1</sup> | C-Fluoro-<br>curtin | C-Fluoro-<br>curarin | C-Currarin | C-Cale-<br>bassin | (C-Al-<br>kaloide<br>B-, C-, D-<br>Gruppe | C-Toxi-<br>ferm I | C-Al-<br>kaloid I |
|--------------------------------|-----------------|--------------------------------------------------|---------------------|----------------------|------------|-------------------|-------------------------------------------|-------------------|-------------------|
| N I                            | Töpfchen        | 1,1                                              | ++                  | ++                   | ++         | ++                | ++                                        | +                 | +                 |
| N II                           |                 | 1,3                                              | ++                  | ++                   | ++         | ++                | ++                                        | +                 | +                 |
| N III                          |                 | 1,6                                              | ++                  | ++                   | ++         | ++                | ++                                        | +                 | +                 |
| N IV                           |                 | 0,7                                              | Spuren              | ++                   | ++         | ++                | ++                                        | Spuren            | +                 |
| N VI                           | Töpfchen        | 0,6                                              | nil                 | ++                   | ++         | ++                | ++                                        | ?                 | +                 |
| N VII                          |                 | 0,9                                              | nil                 | ++                   | ++         | ++                | ++                                        | ?                 | +                 |
| N VIII                         |                 | 3,0                                              | +                   | +                    | ++         | ++                | +                                         | nil               | +                 |
| N IX                           |                 | 1,8                                              | Spuren              | Spuren               | ++         | nil               | nil                                       | +                 | nil               |
| N X                            | Calebasse       | 1,1                                              | ++                  | ++                   | ++         | ++                | ++                                        | ?                 | +                 |
| N XII                          | Calebasse       | 3,5                                              | ++                  | ++                   | ++         | ++                | ++                                        | nil               | +                 |
| N XV                           | Calebasse       | —                                                | ++                  | ++                   | ++         | ++                | ++                                        | nil               | ?                 |
| N XVI                          | Töpfchen        | 0,5                                              | Spuren              | ++                   | ++         | ++                | ++                                        | nil               | +                 |
| N XVII                         | Töpfchen        | —                                                | Spuren              | ++                   | ++         | ++                | ++                                        | nil               | +                 |
| Rinde von                      |                 |                                                  |                     |                      |            |                   |                                           |                   |                   |
| Str. Mitscherlichii            |                 | 13,5                                             | nil                 | +                    | ++         | ++                | ++                                        | nil               | +                 |
| Str. Erichsonii <sup>2</sup>   |                 | 6,5                                              |                     |                      |            |                   |                                           |                   |                   |
| Str. roncletoides <sup>3</sup> |                 | 17                                               |                     |                      |            |                   |                                           |                   |                   |
| Str. Toxifera                  |                 | 28                                               | nil                 | nil                  | nil        | nil               | nil                                       | +                 | nil               |

Die Anzahl der + bezeichnet die relativen Mengen der gefundenen Alkaloide.

<sup>1</sup> Head-drop-Dosis in mg/kg Maus. <sup>2</sup> Da Farbreaktion mit Cer(IV)sulfat negativ keine typische Calebassenaalkaloide.

curinin, Fluorocurarin, Calebassin und den C-Alkaloiden B, C, D und I gefunden werden (Kehrle, Schmid, Waser und Karrer, 1953 [Tab. 1]).

Das in kleineren Mengen enthaltene Calebassin und äußerst wirksame *Toxiferin* stammt nach Untersuchungen von H. Wieland (1941) aus der Rinde von *Strychnos toxifera* Rob. Schomburgk (= *Urari*, Familie der Loganiaceen). Allerdings ist zu beachten, daß dieser Kletterbaum nur während gewissen Zeiten wirksame Alkaloide enthält, was den Indianern nach Robert Schomburgk wohl bekannt war. Daneben werden sehr wahrscheinlich Rinde, Splint oder Wurzeln auch anderer *Strychnos*-arten verwendet: *Str. guianensis* (*bejuco*), *Str. cogens* (*Arimara*), *Str. pedunculata* (*Yakki*), *Str. Castelnauana* (*Urariüva*), *Str. rubiginosa*, *Str. trinervis*, *Str. diaboli*, *Str. Gardneri*, *Str. Jobertiana*, *Str. near hirsuta*, *Str. Peckii*, *Str. Solimoesana*, *Str. Gubleri* u. a. Die rohen Rindenextrakte dieser Pflanzen scheinen deutliche Curarewirkung zu haben. Es können ihnen jedoch bis heute keine Einzelalkaloide zugeordnet werden.

Die Wurzelrinde der venezolanischen Droge *Macacure* (*Str. guianensis*!) enthielt nach T. Wieland (1952) das wenig wirksame *Macacurin* und ein weiteres unbekanntes Alkaloid. Schlittler (1952) isolierte aus *Str. Melinoniana Melinonin A* und *B*, die aber in Calebassen nicht vorkommen.

H. Wieland gewann aus Calebassenmaterial l-Curin, das aus *Chondrodendron platyphyllum* stammt. Das von Wintersteiner und Dutcher 1934 aus *Chondrodendron tomentosum Ruiz und Pavon*, einer andern Menispermaceenart gewonnene d-Tubocurarinchlorid wurde dagegen nie in Calebassen gefunden und scheint von den betreffenden Indianerstämmen tatsächlich nur für die Herstellung des Tubocurare verwendet zu werden. Auch *Erythrin*-alkaloide wurden bis jetzt in Calebassen nicht nachgewiesen.

Die Hauptbestandteile der Calebassen stammen daher aus *Strychnos*-arten, und wir können mit Sicherheit sagen, daß die Eingeborenen des mittleren und oberen Orinokos für Curarebereitung die Rinde von *Strychnos Mitscherlichii* und *Strychnos toxifera* verwenden. Diese windenartigen Urwaldpflanzen ranken sich an anderen Bäumen empor, umschlingen diese und sich selbst wie Seile. Ältere Exemplare können nach einer Beschreibung von Waterton (Wanderings in South-America, London 1879) mannsdicke Stämme haben, die durch ihr Gewicht und ihre Festigkeit auf die befallenen Bäume enorme Kräfte ausüben. Die von den Baumkronen niederhängenden Zweige fassen im umgebenden Boden wieder Wurzeln, so daß ein undurchdringliches Geflecht entsteht. Sie werden daher auch »Buschseile« genannt. Da sie beinahe nur an ihren obersten Teilen, dem der Luft und der Sonne zugewandten Dach des Urwaldes, Zweige, Blätter und Blüten tragen, ist ihre Identifikation sehr mühsam. Zum Sammeln der Blüten und Früchte müssen oft mehrere Bäume mit ihren Schlinggewächsen gefällt werden. Vom Boden aus ist die Bestimmung allein durch Holz und Rinde sehr schwer, und es sind demzufolge Verwechslungen in der Nomenklatur vorgekommen.

Besonders verdienstvoll in der Erforschung dieser Urwaldpflanzen waren

*Humboldt*, die Gebrüder *Schomburgk*, *de Castelnau*, *Jobert*, *Crevaux*, *Schiracke*, *Weddell*, *Kruckoff*, *Smith*, *Barbosa Rodrigues*, *de Tiremois* u. a. *A. R. McIntyre* hat in seinem Curarebuch ausführliche Listen der verschiedenen bis jetzt identifizierten Pflanzen zusammengestellt (vgl. auch *D. F. Marsh*, 1951).

## Chemische Kenntnisse

### a) Trennmethoden

Bei den Calebassencurare handelt es sich um äußerst komplizierte Alkaloidgemische, die nur sehr mühsam in die einzelnen Komponenten zerlegt werden können. So konnte *Boehm* nur ein amorphes «Curarin» gewinnen. Während vor wenigen Jahren die *Chromatographie* an *Aluminiumoxyd* erfolgreich war, benützt man heute mit viel besserem Resultat *Cellulose*-säulen.

*King* reinigte die wirksame Substanz der *Strychnos-toxifera*-Rinde über ein amorphes Jodid und Quecksilberdoppelsalz. *Sonderhoff* erhielt ein vierfach wirksameres Perchlorat durch Fraktionieren an einer Adsorptionskolonne (zit. in *H. Wieland*, 1937).

*H. Wieland* und *W. Konz* führten 1937 die erste Trennung der Wasser- oder Methanolextrakte des Rohcurare durch Chromatographie der wasser-schwerlöslichen Alkaloidreineckate in Aceton an Aluminiumoxyd durch. Die Alkaloide in den einzelnen Fraktionen wurden dann mit Silbersulfat und Bariumchlorid in die Chloride übergeführt und diese erneut chromatographiert. Wir verdanken *H. Wieland* die ersten kristallinen Alkaloide. *Karrer* und *Schmid* stellten 1946 die gut kristallisierenden Pikrate her, die dann bei der Filtration durch eine mit Chlorionen beladene Wofatit-M-Säule in die gereinigten Chloride umgewandelt wurden. Leider gab diese Trennmethode bei den zur Verfügung stehenden kleinen Alkaloidmengen deutliche Verluste.

1950 zeigten *Schmid* und *Karrer*, daß nur ein Teil der bis dahin isolierten Alkaloide (C-Curarin I, C-Toxiferin I, C-Calebassin, C-Fluorocurin) papierchromatographisch einheitlich rein waren. Das Chromatogramm der Roh-extrakte ergab mit der Cer(IV)-sulfat-Farbreaktion oder durch Fluoreszenz im Ultraviolettlicht über 30 verschiedene Alkaloidflecken. Ein zweidimensionales Papierchromatogramm von 1 mg der gereinigten Chloride aus dem Calebassencurare N III zeigt die heterogene Zusammensetzung aus zahlreichen Alkaloiden (Abb. 4). Diese sind nach ihrer Lage in einzelne Trenn-gruppen T<sub>1</sub>-T<sub>5</sub> eingeteilt. Die Trennfähigkeit des Cellulosepapiers scheint daher auch für diese Alkaloide ausgezeichnet zu sein. Die R<sub>F</sub>-Werte wurden durch Chromatographie in einer organischen Phase (Essigester, Pyridin, Wasser) und einem Gemisch von Methyläthylketon, Wasser und Cellosolve bestimmt.

*T. Wieland* und *H. Merz* machten sich diese Erkenntnis 1952 zunutze und chromatographierten ihre Calebassenextrakte erneut an einer aus 3-6 Ein-

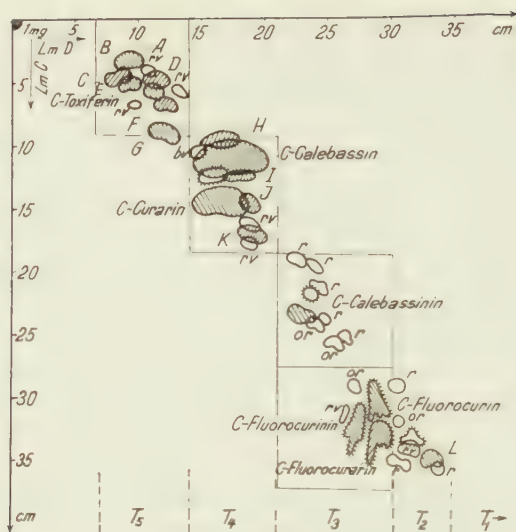


Abb. 4. Papierchromatogramm von 1 mg gereinigter Chloride aus Calebassencurare N III. Das C-Fluorocurinin kam in dieser Calebasse nicht vor. Da es aber in den meisten von uns untersuchten Calebassen enthalten war, wurde es zum Vergleich trotzdem eingezeichnet. Die einzelnen Flecken wurden durch Ansprühen mit Cer(IV)-sulfat bzw. mit Jodlösung kenntlich gemacht.  $\text{\%}$  = Fluoreszenz im UV, r = rote, bv = blauviolette, rv = rotviolette, or = orange Cer(IV)sulfat-Reaktion. C-Calebassinin ließ sich nur durch Besprühen mit Jodlösung nachweisen. Die schraffierten Flecken repräsentieren isolierte Alkaloide.

heiten von 12–14 cm Höhe zusammengesetzten Cellulosesäule. Die schon früher gefundenen Alkaloide wurden in reinem Zustand erhalten. Für den Nachweis wurde eine neue Farbreaktion mit Zimtaldehyd verwendet.

Schmid, Kehrle und Karrer entwickelten gleichzeitig ein sehr wirksames und sozusagen verlustloses Trennverfahren, indem sie die Verteilungschromatographie an einer 1,4 m hohen Säule mit 1,7 kg Cellulosepulver nach der Durchlaufmethode ausführten. Analog der Wanderung auf dem Filterpapier, erscheinen die einzelnen Alkaloide im Eluat in zeitlichen Abständen. Sie wurden als Chloride mittels eines Fraktionensammlers in Fraktionen von 20 ml während 10 Tagen ununterbrochen aufgenommen. Lösungsmittel waren wassergesättigtes Methyläthylketon mit 1–3% Methanol und ein Gemisch von Essigester, Pyridin, Wasser.

Die Vorreinigung der Wasser-, Methanol- und Methanol-Essigsäure-Extrakte aus den Calebassen erfolgte durch Abtrennung der tertiären Basen und Fällung der quartären Alkaloide als Reineckate. Die daraus erhaltenen Chloride wurden durch Filtration über saurem Aluminiumoxyd von den dunkeln Begleitstoffen befreit. Aus einer Calebasse (N III) von 450 g Gewicht erhielt man so 15 g Alkaloidchloride, deren Durchlaufchromatogramm in einzelne Alkaloidgruppen ( $T_1$ – $T_5$ ) unterteilt wurde. Diese mußten oft

Tabelle 2. Bis jetzt aus Calebassen isolierte Alkaloide.

| Alkaloid                                              | Formel                                           | R <sub>G</sub> -Wert der Chromatographie | Wirksamkeit (Head-drop) $\gamma$ /kg Maus | Autoren                                                                |
|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| C-Curarin I                                           | $(^1\text{H}_{21}\text{N}_2)^+$                  | 1,00                                     | 30                                        | Wieland, Pistor, Ann. d. Chemie <b>536</b> , 68 (1938)                 |
| C-Alkaloid G                                          | $(^1\text{H}_{23}\text{ON}_2)^+$                 | 0,65                                     | 0,6                                       | Kehrle, Schmid, Waser, Karrer, Helv. chim. Acta <b>36</b> , 102 (1953) |
| C-Alkaloid E                                          | $(^1_{19-20}\text{H}_{23}\text{ON}_2)^+$         | 0,36                                     | 0,3                                       | Kehrle, Schmid, Waser, Karrer, Helv. chim. Acta <b>36</b> , 102 (1953) |
| C-Toxiferin I                                         | $(^1\text{H}_{23}\text{ON}_2)^+$                 | 0,42                                     | 9                                         | Schmid, Karrer, Helv. chim. Acta <b>30</b> , 1162 (1947)               |
| C-Alkaloid H                                          | —                                                | 0,71                                     | 16                                        | Kehrle, Schmid, Waser, Karrer, Helv. chim. Acta <b>36</b> , 102 (1953) |
| C-Alkaloid 2                                          | —                                                | —                                        | —                                         | Kehrle, Schmid, Waser, Karrer, Helv. chim. Acta <b>36</b> , 102 (1953) |
| C-Alkaloid K<br>= Dihydrotoxiferin I                  | $(^1\text{H}_{23}\text{N}_2)$                    | 1,22                                     | 30                                        | Wieland, Bähr, Witkop, Ann. d. Chemie <b>547</b> , 156 (1941)          |
| C-Calebassin<br>= C-Toxiferin II<br>= Strychnotoxin I | $(^1\text{H}_{25}\text{ON}_2)^+$                 | 0,80                                     | 240                                       | Wieland, Bähr, Witkop, Ann. d. Chemie <b>547</b> , 156 (1941)          |
| C-Alkaloid I                                          | $(^1_{19-20}\text{H}_{23-25}\text{N}_2)^+$       | 0,89                                     | 174                                       | Kehrle, Schmid, Waser, Karrer, Helv. chim. Acta <b>36</b> , 102 (1953) |
| C-Alkaloid F                                          | $(^1_{20}\text{H}_{23}\text{O}_2\text{N}_2)^+$   | 0,49                                     | 75                                        | Kehrle, Schmid, Waser, Karrer, Helv. chim. Acta <b>36</b> , 102 (1953) |
| C-Alkaloid A                                          | $(^1\text{H}_{23}\text{O}_2\text{N}_2)^+$        | 0,23                                     | 70                                        | Kehrle, Schmid, Waser, Karrer, Helv. chim. Acta <b>36</b> , 102 (1953) |
| C-Curarin II<br>= Strychnotoxin Ia                    | $(^1_{20}\text{H}_{25}\text{ON}_2)^+$            | —                                        | —                                         | Wieland, Pistor, Ann. d. Chemie <b>536</b> , 68 (1938)                 |
| C-Alkaloid D                                          | $(^1_{20}\text{H}_{21}\text{ON}_2)^+$            | 0,35                                     | 1100                                      | Kehrle, Schmid, Waser, Karrer, Helv. chim. Acta <b>36</b> , 102 (1953) |
| C-Alkaloid B                                          | $(^1\text{H}_{23}\text{ON}_2)^+$                 | 0,34                                     | 280                                       | Kehrle, Schmid, Waser, Karrer, Helv. chim. Acta <b>36</b> , 102 (1953) |
| C-Alkaloid C                                          | —                                                | 0,34                                     | 240                                       | Kehrle, Schmid, Waser, Karrer, Helv. chim. Acta <b>36</b> , 102 (1953) |
| C-Fluorocurin                                         | $(^1\text{H}_{23}\text{O}_2\text{N}_2)^+$        | 2,10                                     | 4400                                      | Schmid, Karrer, Helv. chim. Acta <b>30</b> , 2081 (1947)               |
| C-Fluorocurmin                                        | $(^1_{21}\text{H}_{29}\text{O}_2\text{N}_2)^+$ ? | 2,23                                     | 2750                                      | Kehrle, Schmid, Waser, Karrer, Helv. chim. Acta <b>36</b> , 102 (1953) |
| C-Calebassinin                                        | $(^1_{19}\text{H}_{23}\text{O}_2\text{N}_2)^+$   | 1,68                                     | 22000                                     | Schmid, Karrer, Helv. chim. Acta <b>30</b> , 2081 (1947)               |
| C-Alkaloid UB                                         | $(^1_{10}\text{H}_{23}\text{O}_3\text{N}_2)^+$   | —                                        | —                                         | Schmid, Karrer, Helv. chim. Acta <b>30</b> , 2081 (1947)               |
| C-Alkaloid J                                          | $(^1\text{H}_{21-2}\text{N}_2)^+$                | 1,04                                     | 290                                       | Kehrle, Schmid, Waser, Karrer, Helv. chim. Acta <b>36</b> , 102 (1953) |
| C-Alkaloid L                                          | —                                                | 2,50                                     | 1900                                      | Kehrle, Schmid, Waser, Karrer, Helv. chim. Acta <b>36</b> , 102 (1953) |
| C-Fluorocurarin<br>= C-Curarin III                    | $(^1_{20}\text{H}_{23}\text{ON}_2)^+$            | 2,25                                     | 1800                                      | Wieland, Pistor, Bähr, Ann. d. Chemie <b>547</b> , 140 (1948)          |

mehrere Male rechromatographiert werden, um eine genügende Trennung zu erreichen. Die reinen Alkaloide kristallisierten leicht. Im gesamten wurden so 21 Alkaloide, wovon über zwei Drittel erstmals, rein dargestellt.

Bei der Gewinnung des Gemisches der vorgereinigten Alkaloidchloride ging praktisch keine Aktivität (Lähmung im Mäusetest) verloren. Nach der Verteilungschromatographie an Cellulose fanden sich 98% der ursprünglichen Aktivität in den Trenngruppen T<sub>4</sub> und T<sub>5</sub>. T<sub>1</sub> und T<sub>2</sub> enthielten nur 0,6%, T<sub>3</sub> 1% der Ausgangsaktivität. Von dem Material der Gruppen T<sub>4</sub> und T<sub>5</sub> wurden 67% als kristallisierte Alkaloide abgetrennt, die etwa 80% der Aktivität entsprechen. 38% der Totalaktivität werden durch C-Curarin, 20% durch C-Alkaloid G, 12% durch C-Calebassin und etwa 5% durch C-Toxiferin verursacht.

Da als zuverlässiger Test für die Einheitlichkeit dieser quartären Alkaloidsalze die ungenauen Schmelzpunkte nicht in Frage kommen, wurde neben dem UV-Spektrum, den Farbreaktionen und der biologischen Wirksamkeit zur Identifikation vor allem die R<sub>F</sub>-Werte des Durchlaufchromatogramms, d. h. auf einem Papierstreifen verglichen mit C-Curarin I zurückgelegte Weg, verwendet. Er ist vom Lösungsmittel abhängig. Die Farbreaktionen können auf der Tüpfelplatte mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HNO<sub>3</sub> und Cer(IV)-Sulfat durchgeführt werden, wobei vor allem die zeitlichen Farbänderungen analog der Verblassungsreaktion auf dem Papier charakteristisch sind.

b) *Heute bekannte Calebassenalkaloide* (s. Tab. 2)

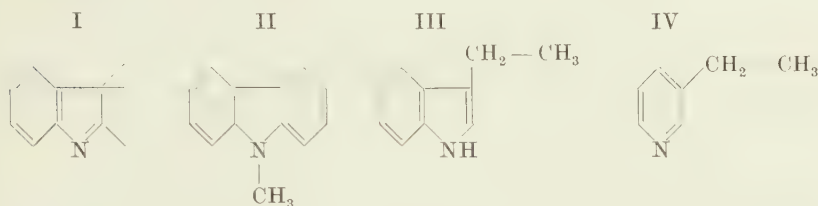
### c) *Konstitutionsaufklärung*

Bis jetzt wurde keines der erwähnten Calebassenalkaloide chemisch vollständig abgeklärt. Schuld daran ist neben dem komplizierten Bau vor allem die geringe Menge der zur Verfügung stehenden, bis heute oft auch unreinen Verbindungen.

Es wurde bis vor einigen Jahren vermutet, daß für eine Gruppe derselben eine Yohimbin-ähnliche Struktur in Frage komme (*H. Wieland*, 1947). Wir haben versucht, durch Umbau des Yohimbinskelettes und Herstellung der entsprechenden quartären Salze (*Karrer* und *Waser*, 1949) diesen Naturstoffen ähnliche Verbindungen zu erhalten. Es ist uns jedoch nicht gelungen, eine solche Beziehung zu beweisen, obwohl die synthetisierten Alkaloide curarewirksam waren. Heute wird angenommen, daß viel eher eine konstitutionelle Verwandtschaft mit dem Strychnin bestehe, die auch durch Abstammung von der gleichen Pflanzenart (*Strychnos*) begründet ist. Zu diesem Schluß führen vor allem die einzelnen Abbauprodukte, die dem Strychninabbau zum Teil ähnlich sind. Synthetische Versuche (*Karrer*, *Engster*, *Waser*, 1949) haben ergeben, daß aus Strychnidin sehr aktive Verbindungen erhältlich sind.

Nach den Ultravioletspektren, Farbreaktionen und spezifischen Drehungen können die Alkaloide in verschiedene Gruppen eingeteilt werden:

*I. Curaringruppe.* C-Curarin I und den C-Alkaloiden E und G liegt wahrscheinlich ein Indoleninringsystem (I) zugrunde:



Die spezifische Drehung dieser Alkaloide liegt um  $+70^\circ$ . Eines der beiden N-Atome gehört einer quartären Ammoniumsalzgruppierung an. Durch Erhitzen des Curarinchlorids in der Molekulardestillationsapparatur auf  $300^\circ$  konnten *Karrer* und *Schmid* Methylchlorid abspalten und erhielten Nor-C-Curarin.

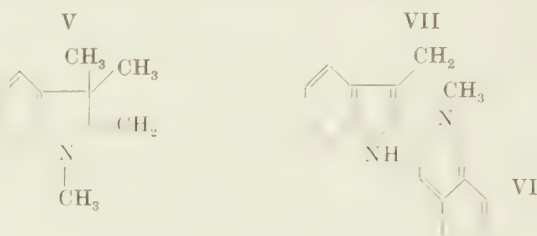
Durch Anlagerung von Methyljodid und Umlagerung in das Chlorid geht dieses wieder in C-Curarin I über. Durch Anlagerung von  $C^{14}$ -markiertem Methyljodid wurde auch radioaktives C-Curarin erhalten (*H. Schmid, K. Schmid, P. Waser* und *A. Ebnöther*, 1951). Nor-Curarin ist nicht acetylierbar. Wahrscheinlich gehört das zweite, tertiäre N-Atom zwei Ringen an. Nach *Wieland* kann aus der Base des C-Curarins beim Erhitzen unter Wasserabspaltung eine ditertiäre Ätherbase entstehen.

Durch Zinkstaubdestillation der tertiären Nor-Curarin-I-Base im Wasserstoffstrom bei  $370^\circ$  erhielten *Schmid, Ebnöther* und *Karrer* (1950) geringe Mengen der folgenden Spaltprodukte:

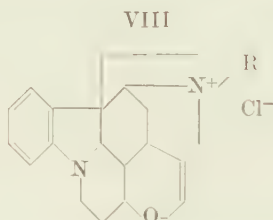
Carbazol, 1-Methylcarbazol (II),  $\beta$ -Äthylindol (III) (zusammen mit etwas Skatol) und  $\beta$ -Äthylpyridin (IV). Da Carbazol sich bei der Zinkstaubdestillation nicht verändert, wurde daraus geschlossen, daß in diesen Bruchstücken 18 der 19 C-Atome der Norbase enthalten sind. Der Indolstickstoff scheint ringförmig substituiert zu sein, denn im Infrarotspektrum fehlt eine NH-Bande, und nach *Zerewitinoff* ist kein aktiver Wasserstoff nachweisbar. Eine Konstitution nach dem Harmantypus (Yohimbin) ist dadurch ausgeschlossen. Ähnliche Bruchstücke wurden auch aus Strychnin erhalten.

*II. Toxiferingruppe.* Die spezifische Drehung der Alkaloide dieser Gruppe (C-Toxiferin I, C-Alkaloide K, H, 2 [Isodihydrotoxiferin]) ist außergewöhnlich hoch (etwa  $-600^\circ$ ). Bei der Erhitzung von C-Dihydrotoxiferin mit Schwefel- oder Zinkstaub konnten *H. Wieland, Witkop* und *Bähr* (1947) Isochinolin (VI) und  $\beta$ -Äthylindol (VII) als Spaltprodukte erhalten. Die gleichen Verbindungen waren von *Witkop* (1944), *Winterstein* und *Walter* (1927) beim Abbau des *Yohimbins* gefunden worden, so daß vermutet wurde, diese Alkaloide hätten ein Yohimbinringgerüst. Entsprechende Yohimbinderivate haben jedoch eine geringere Drehung ( $-100^\circ$ ) und sind viel weniger curare-

aktiv. Das UV-Spektrum kann am besten mit dem des N-Methyl-3, 3-dimethyl-2-methylenindolin (V) verglichen werden.

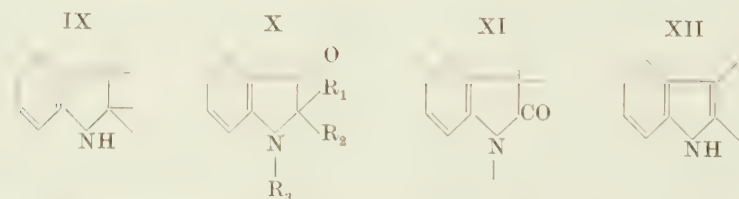


**III. Calebassingruppe.** Ihre Alkaloide (Calebassin und C-Alkaloide A, F, I, X und C-Curarin II) geben mit konz.  $\text{HNO}_3$  eine charakteristische karminrote Farbreaktion, nach der man sie auch «Rotstoffe» genannt hat. Aus Calebassin erhielt *H. Wieland* (1917) durch Destillation mit Schwefel  $\beta$ -Äthylpyridin. Das Spektrum stimmt weitgehend mit jenem des Strychninsäure-N-Oxydes und des *Strychnidins* überein. Quartäre Strychnidinsalze (VIII) haben sich auch als deutlich curareaktiv erwiesen (*Karrer, Engster und Waser*, 1949).



**IV. C-Alkaloid B, C, D-Gruppe.** Das Spektrum ist denen der Calebassine ähnlich und stimmt angenähert mit *Gelsemin*- und *Aspidosperminderivaten* überein. Chromophor: IX.

**V. Fluorocuringruppe** mit C-Fluorocurin und C-Fluorocurinin. Die Fluoreszenz dieser Alkaloide im UV-Licht ist intensiv grüngelb. Die Spektren sind mit einem N-alkylierten und in 2,2 Stellung disubstituierten Indoxyl (X) verwandt:



**VI. C-Fluorocurarin** fluoresziert im UV blau. Das Spektrum erwies sich mit dem des C-Curarin III von *H. Wieland* identisch.

VII. *C-Calebassinin* und *C-Alkaloid UB* haben wahrscheinlich ein N-substituiertes Oxindol als Chromophor (XI). Sie gleichen darin dem *Gelsemin* oder *Strychnin*.

VIII. *C-Alkaloid J*, *C-Maracurin* und *Melionin B* haben Spektren, die auf ein disubstituiertes Indol hinweisen (XII).

### Pharmakologische Arbeiten

Die ersten Versuche, von denen wir Kenntnis haben, wurden von *de la Condamine* (1745?) in Cayenne mit *Ticuna*, einem *Strychnoscurare* der *Ticuna*-Indianer ausgeführt. Er wollte die Wirksamkeit eines ein Jahr alten Musters prüfen und zugleich die Antidotwirkung von Zucker an Hühnern nachweisen. Diese primitiven Experimente mit Pfeilen zeigten die große Giftigkeit des Curare, ohne eine Abschwächung der Wirkung durch Zucker zu beweisen. Sie wurden von *Condamine* später mit dem gleichen Resultat in *Leyden* wiederholt. *Brockelsby* beschrieb 1747 in einem Brief an die *Royal Society* in *London* die allgemeine Wirkung auf Katzen, Hunde und Vögel. Die letzteren konnten auch mit großen oralen Dosen getötet werden. *Herissant* machte 1751 an einer bedeutenden Zahl von Tieren, worunter auch Pferden, ähnliche Versuche.

*Felix Fontana* (*Traité sur le venin de la vipère et sur les poisons américains*, Florence 1781) führte als erster mit *Ticuna* aus einem Tontöpfchen wissenschaftlich einwandfreie Versuche durch und zeigte, daß die Versuchstiere auch nach *Verschlucken* großer Giftdosen starben. Curaredämpfe waren für Tauben nicht gefährlich, wie früher immer wieder behauptet worden war. Das Gift wurde in kaltem Wasser wie in Mineral- und Pflanzensäure rasch und vollständig gelöst. Es verminderte die Irritabilität des Muskels, ohne die des Herzens zu verändern. Weder Zucker noch Salz wirkten als Antidot. Auch *A. von Humboldt* experimentierte mit seinem Curare und fand keine Irritabilitätsveränderung bei Froschnerven. *Brodie* und *Bancroft* demonstrierten 1811, daß mit einem Blasebalg durch eine Trachealkanüle künstlich beatmete Tiere trotz Curarisierung am Leben bleiben. *Sibson* machte darauf Versuche mit *Wourali* der *Macusi* (Guyana), das er von *Waterton* (1879) erhalten hatte, und mit *Urari* von *Robert Schomburgk* (aus Esmeralda) an Eseln. Er versuchte auch den Tetanus der Pferde mit diesem Curare zu behandeln.

*R. Virchow* und *J. Münter* untersuchten 1847 das *Urari* von *Richard Schomburgk* in der *Berliner Charité*. Sie fanden, daß die Wirkung nach 5 Jahren nicht vermindert war und keineswegs der des Strychnins glich. Besonders durch Wundresorption kam die Lähmung der willkürlichen Muskulatur ohne tetanische Erscheinungen zur Geltung.

Am besten bekannt sind jedoch die wunderbaren Versuche von *Claude Bernard*, in denen er 1856 mit einfachsten Mitteln den Angriffspunkt des

Curare demonstrierte und eindeutig bewies: Wenn die Curarelösung in den Brustlymphsack eines Frosches injiziert wird, dessen eines Bein unter Schonung des freigelegten N. ischiadicus unterbunden wurde, sind die Muskeln der ligierten Extremität vom Nerv aus erregbar, was auf der curarisierten Seite nicht mehr möglich ist. Die gelähmten Muskeln kontrahieren sich nur noch bei direkter Stimulierung. Bei Reizung der Haut des gelähmten Beines bewegt sich die zuvor unterbundene Extremität. Sobald die Curarelösung in einem Bad nur zum Nerven gelangt, bleibt dessen Leitfähigkeit erhalten. Der Angriffspunkt, der auf dem Blutweg erreicht wird, muß daher an der Verbindungsstelle zwischen Nerv und Muskel, der Endplattenregion, liegen, und Nerv wie auch Muskel bleiben selbst erregbar. Die Sensibilität bleibt erhalten. Etwa gleichzeitig hat *A. Kölliker* ähnliche Beobachtungen veröffentlicht.

Bemühungen, die Wirkstoffe aus »Curare« zu isolieren und wenn möglich in reinem Zustand zu gewinnen, gehen auf *R. Böhm* (1897) zurück. Aus Calebassen reicherte er ein amorphes »Curarin« an, das eine Wirksamkeit von etwa 0,28 mg/kg Frösche besaß, aber nicht einheitlich war. Erst mit Hilfe modernster Isolierungsmethoden ist es einigen Forschern gelungen, wirklich reine, kristallisierte Verbindungen von teilweise sehr starker Wirksamkeit zu erhalten, die eine pharmakologische Prüfung ermöglichten. Die Reinalkaloide, die *H. Wieland* und Mitarb. (1937–1941) sowie später *P. Karrer* und *H. Schmid* (1946–1947) gewannen, wurden vorerst wegen der kleinen Substanzmengen nur für Toxizitätsversuche bei Fröschen und Kaninchen verwendet. Erst 1950 konnten wir die ersten Calebassenalkaloide (C-Toxiferin I, C-Curarin I, Calebassin, Calebassinin, C-Fluorocurarin) pharmakologisch eingehend an Katzen, Kaninchen und Mäusen (als neuen Test für kleine Substanzmengen) untersuchen. 1951 arbeiteten *D. F. Marsh* und *D. A. Herring* mit C-Curarin I, *W. D. M. Paton* und *W. L. M. Perry* mit Toxiferinen, die von *H. King* isoliert wurden. Über bis jetzt bekannte Untersuchungen, und insbesondere über die pharmakologische Wirkung von 14 durch *Schmid*, *Kehrle* und *Karrer* 1953 neu isolierte Alkaloide soll im folgenden eingehend berichtet werden.

## A. Froschtest

Seit den klassischen Versuchen von *Claude Bernard* wird zum Nachweis der Curarewirkung an der motorischen Endplatte die Lähmung von Fröschen immer wieder als einfachster Curaretest verwendet (vgl. *R. Böhm*). Wird der gelöste Stoff in einen subcutanen Lymphraum injiziert, setzt nach einer Latenzzeit die Lähmung ein, die zu einer Schwächung der Motilität (Verkleinerung der normalen Sprunghöhe und -weite) bis zur Aufhebung der Aufrichtereflexe, z. B. aus der Rückenlage, führt. Wenn die Lähmung weiter fortschreitet, bleiben auch Reflexbewegungen auf starke sensorische Reize (Druck, Schmerz) aus, und die Lungenatmung hört auf. Der Frosch über-

lebt diese Lähmung mit Hilfe seiner Hautatmung. Der Herzschlag ist durch die Thoraxwand bis zur letalen Intoxikation erkennbar.

Diese an sich einfache Testmethode hat vor allem den Nachteil, daß die Giftempfindlichkeit des Frosches jahreszeitliche Schwankungen aufweist. Die Toxizitätsunterschiede für Sommer- und Winterfrösche betragen oft mehr als 100%. *Paton* und *Perry* (1951) fanden für C-Toxiferin I im September eine doppelt so hohe minimal paralytische Dosis (m.p.D.) wie im März. Aus diesen Gründen sind von einigen Autoren bei Fröschen für d-Tubocurarin und Calebassenalkaloide unterschiedliche Aktivitäten gefunden worden. Eine Testmethode, die derart schwankende Werte ergibt, kann jedenfalls nicht zur Identifizierung eines Alkaloides auf biologischem Wege dienen. Die Aktivitätsbestimmung von Calebassen-Toxiferin I z. B. hat zu einer Lähmungsdosis von 0,6  $\gamma$  (*Schmid* und *Karrer*, 1947), die von Toxiferin I aus *Strychnos toxifera* zu einer solchen von 0,3  $\gamma$  (*Wieland*, *Bähr*, *Witkop*, 1941) pro Frosch geführt, weshalb man zuerst irrtümlicherweise annahm, daß die beiden Alkaloide verschieden seien. Später wurde nachgewiesen, daß tatsächlich die Frösche verschieden empfindlich und die Verbindungen identisch waren.

Da sich die früheren Untersuchungen (*Wieland*, *Paton* und *Perry*) nur mit der Feststellung der Toxizität befaßten, untersuchten wir am Frosch den Curarisierungsverlauf (neben der m.p.D. die Wirkungsdauer und Wirkungsintensität für verschiedene Dosen), der uns in größerer Menge zur Verfügung stehenden Alkaloide C-Toxiferin I, C-Curarin I und C-Calebassin. Vor allem wurden auch einige elektrophysiologische Daten (Rheobase, Chronaxie), die später besprochen werden sollen, mitberücksichtigt. Die erhaltenen Versuchsergebnisse sind von *F. Gysling* in einer Dissertation (Zürich 1953) dargestellt worden.

In 330 Versuchen fanden wir für diese drei Alkaloide eine ähnliche Toxizität wie andere Autoren. Unsere Dosis bezieht sich wie die von *Paton* und *Perry* (1951) auf die Rückenlage, die von 50% der Frösche ohne Abwehr während 2 Minuten innegehalten wird. Im Gegensatz zu früheren Untersuchungen verlangten wir keine absolute Reflexlosigkeit des Frosches. Die Testierung wurde in den Wintermonaten (Dezember und Januar) vorgenommen, in denen die Tiere am empfindlichsten sind und in der Ansprechbarkeit am wenigsten vom Mittelwert abweichen. (In Klammern maximale Abweichung, Werte in mg/kg.)

Unsere Werte liegen für C-Toxiferin tiefer als die von *Paton* und *Wieland*, da wir vielleicht eine reinere Verbindung (papierchromatographiert!) untersuchten. Aber auch hier besteht die Unsicherheit der saison- und herkunft-

|               | Gysling               | Paton/Perry |       | Schmid/Karrer | Wieland<br>und Mitarb. |
|---------------|-----------------------|-------------|-------|---------------|------------------------|
|               |                       | März        | Okt.  |               |                        |
| C-Toxiferin I | 0,0055 ( $\pm 15\%$ ) | 0,0075      | 0,014 | 0,005(–0,009) | 0,009                  |
| C-Curarin I   | 0,068 ( $\pm 12\%$ )  |             |       | 0,1           | 0,06–0,08              |
| C-Calebassin  | 0,19 ( $\pm 6\%$ )    |             |       | 0,2 –0,5      |                        |

bedingten Einflüsse. Eine Temperaturabhängigkeit (Frösche in Badflüssigkeit mit 6 oder 25 °) der m.p.D. oder der Dauer bis zum Eintritt der Lähmung konnten wir nicht feststellen. Die Wirkung trat auch etwa gleich schnell bei intramuskulärer, intraperitonealer und endolymphaler Injektion ein. Der Verlauf der Curarisierung kann durch wiederholte starke äußere mechanische Reize (Kneifen der Zehen) verändert werden: Je nach dem Curarisierungsstadium wird ein Frosch trotz «Beinlähmung» wieder normal hohe Sprünge ausführen, sich bei scheinbar gelähmter Rückenmuskulatur aus der Rückenlage umdrehen, im Stadium der Atmungslähmung schnappende Atemzüge ausführen und auf Kneifen für eine halbe Minute wieder Reflexe zeigen. Dieses Verhalten erinnert an die Beobachtung von *Boyd* und *Brosnan* (1936), die am curarisierten Nerv-Muskel-Präparat, das auf indirekte Reizung mit einzelnen Stromstößen nicht mehr ansprach, nach kurzer tetanischer Reizung der Nerven vorübergehend wieder Einzelzuckungen auslösen konnten. Ähnliche Resultate haben wir auch bei Faradisierung des N. ischiadicus an curarisierten Katzen erhalten. Die Dauer dieser partiellen Erholung war in unsern Froschversuchen von Dosierung und Art des Alkaloides unabhängig (20 bis 40 Sek.). Sie läßt sich nicht in beliebig kurzen Abständen wiederholen, denn nach einer Tetanisierung bleibt der Muskel auf alle weiteren Reize für eine bestimmte Zeit refraktär. Die Dauer der Refraktärzeit ist abhängig von Dosis und Art des Alkaloides und steigt bei der vier- bis zehnfachen m.p.D. etwa proportional mit dem Quadrat der Dosis an. Von der 15fachen m.p.D. an läßt sich der Muskel durch keine äußeren Reize mehr erregen, d. h. die Refraktärzeit wird praktisch unendlich. C-Toxiferin I bewirkt die längste, C-Curarin I die kürzeste Refraktärzeit.

Bei hohen Alkaloiddosen (etwa 50fache m.p.D.) ändert sich das Bild der fortschreitenden Curarisierung, indem vor dem raschen Eintritt der Muskellähmung die Tiere unruhig werden und eine gesteigerte Atmungsfrequenz aufweisen. Durch die leiseste Berührung ließen sich Reflexe auslösen, die sich gelegentlich bis zu klonischen Krämpfen der Extremitäten steigerten.

Beim Frosch ist die Dosis letalis der untersuchten Alkaloide sehr hoch (nach einigen Versuchen über 100 m.p.D.) und konnte wegen Substanzmangel nicht sicher festgelegt werden. Über den zeitlichen Eintritt der Lähmung bei verschiedener Dosierung und ihre Dauer orientiert Abb. 5.

Calebassin führt etwas rascher zur Lähmung als C-Curarin I, C-Toxiferin I unterscheidet sich deutlich von den genannten Alkaloiden, indem es erst in der doppelten bis dreifachen Zeit lähmt. Dieses Verhalten werden wir später bei Versuchen an anderen Tierarten noch viel ausgesprochener finden. Auffallend ist schon bei diesen Froschversuchen, daß die Lähmungsdauer der einzelnen Alkaloide stark unterschiedlich ist. Toxiferin bewirkt die intensivste Lähmung über lange Zeit.

Ermüdung verkürzt die Zeit bis zum Wirkungseintritt bei mittleren Dosen (bis 10 m.p.D.) um etwa 20% und verlängert die Lähmungszeit um 10% (bei 2-5facher m.p.D.). Das Ende der Lähmung wird durch die spontane

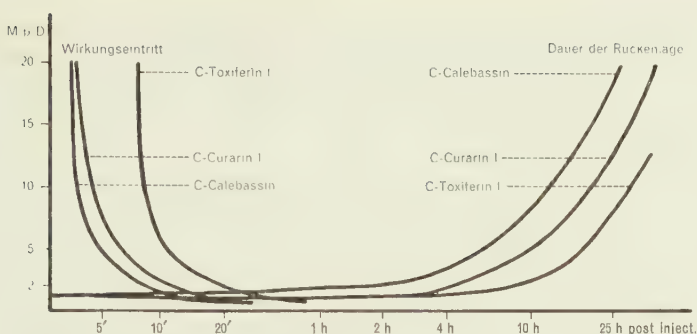


Abb. 5. Wirkungseintritt und Dauer der Rückenlage bei Fröschen.  
M.p.D. = Minimal paralytische Dosis.

Umdrehung des Frosches gekennzeichnet. Die Abweichung dieser Zeitwerte ist besonders bei hohen Dosen ziemlich groß (maximal  $\pm 50\%$  des Mittelwertes).

Bei allen drei Alkaloiden führte die 2,5fache m.p.D. ( $\pm 20\%$ ) zum Atmungsstillstand nach etwa der doppelten Zeit, die zwischen Injektion und Lähmungseintritt verstreicht. Der Atmungsstillstand dauert  $\frac{4}{5}$ – $\frac{7}{8}$  der totalen Lähmungszeit. Mit der 4,2 ( $\pm 16\%$ )fachen m.p.D. tritt nach der doppelten Zeit bis zum Lähmungseintritt vollständige Areflexie, auch auf Kneifen, ein. Sie dauert sehr konstant  $\frac{2}{3}$  der Zeit in Rückenlage.

### B. Mäusetest

Zur Feststellung der pharmakologischen Wirkung bei relativ geringen Alkaloidmengen (total je 0,5–2,0 mg) haben wir eine Testmethode für weiße Mäuse entwickelt (Waser, 1950). Da es sich um Warmblüter handelt, ist ihre Reaktionslage zum Unterschied von Fröschen nicht von der Jahreszeit abhängig. Weitere Vorteile bestehen in der Möglichkeit der intravenösen Injektion (Schwanzvene) einer entsprechend kleinen Dosis, indem mit der gleichen Alkaloidmenge statt eines Kaninchens etwa 50 Mäuse geprüft werden können (Kaninchen sind für Calebassenalkaloide etwas empfindlicher als Mäuse). Außerdem ist an der Maus die zeitlich genaue Feststellung des Eintritts von mehreren Lähmungssymptomen möglich. Die Genauigkeit der Testierung ist dadurch gegenüber Fröschen wesentlich erhöht.

Die Maus wird zur Beobachtung auf einer Glasplatte laufen gelassen. Die ersten Lähmungssymptome zeigen sich in einem unsichern, zitterigen Watschelang, wobei sich das Tier stoßweise ataktisch bewegt. Dann tritt wie beim Kaninchen der Head-drop (HD) ein, der besonders beim Herabfallen des Kopfes über die Kante der Glasplatte deutlich ist. Dieses Symptom muß für die positive Bewertung minimal 20 Sekunden dauern. Bei fortschreitender Lähmung folgt die Seitenlage (SL), in die sich das Tier ohne Abwehr bringen läßt. Entweder tritt nun der Tod durch Atmungs-lähmung ein, oder die Erholung durchläuft rückwärts die gleichen Paralysestufen über Aufrichten (A) aus der Seitenlage und Kopfheben (K) zum aufrechten Laufen. Die Bewegungen sind in der Folgezeit noch unsicher und unkoordiniert. Die Auswertung für die jeweils verwendeten Dosen erfolgt durch Aufzeichnen dieser Zeit in ein Zeit-Dosis-Koordinationssystem. Es ergeben sich für die einzelnen Symptome hyper-

belförmige Kurven, deren gegenseitige Lage die Intensität, die Dauer der Wirkung und die therapeutische Breite (ohne künstliche Beatmung) erkennen läßt (Abb. 6). Umgekehrt läßt sich auf Grund dieser Kurven die Alkaloidkonzentration einer unbekannten Lösung bestimmen. Die *therapeutische Breite* wird definiert durch den Quotient DLM/HD.

Ähnliche Testmethoden, bei denen das Verhalten der Mäuse nach subcutaner oder intravenöser Injektion in einer rotierenden Trommel oder das Eintreten der Rückenlage festgestellt wird, entwickelten *Young* und *Lewis* (1947) sowie *Collier, Hall* und *Fidler* (1949). Bei künstlicher Atmung ertragen Tiere viel größere Dosen, wodurch die Feststellung der Lähmung anderer Synapsen (Kreislaufwirkungen, cholinergische Effekte), der Ausscheidungsgröße usw. möglich wird. Diese Versuche wurden an Kaninchen und Katzen durchgeführt. Im Hinblick auf die Verwendung von Curaresubstanzen in der Humanmedizin ist die Feststellung solcher Wirkungen einer Überdosierung sehr wesentlich.

Um schon mit dem Mäusetest über die Intensität der Lähmung etwas aussagen zu können, bestimmten wir die *Dauer der Lähmung*, d. h. des HD, bei einer Dosis, die in der Mitte zwischen HD und minimal tödlicher Dosis liegt. Aus den Mäusekurven (Abb. 6) sind diese charakteristischen Daten gut ablesbar. Zur Ermittlung der Wirkungsintensität der in Mengen von 0,5–3 mg zur Verfügung stehenden 19 Alkaloide verwendeten wir ungefähr 1000 Mäuse (Gewicht 16–28 g). Sämtliche Chloridsalze waren leicht wasserlöslich und wurden in Volumina bis 0,25 ml in die Schwanzvene injiziert. Die Auswertung der Aktivitätskurven ergab die folgenden Werte in  $\gamma$ /kg Mausgewicht:

Tabelle 3

| C-Alkaloid     | HD      | SL<br>$\gamma$ /kg Maus | DLM      | Thera-<br>peutische<br>Breite | Lähmungs-<br>dauer<br>Min. |
|----------------|---------|-------------------------|----------|-------------------------------|----------------------------|
| E              | 0,3–4,0 | 0,5–5,0                 | 0,95–8,0 | 3,2                           | 18                         |
| G              | 0,6–5,0 | 0,65–7,0                | 0,7–12,0 | 1,2                           | 7                          |
| C-Toxiferin I  | 9       | 12                      | 23       | 2,5                           | 12                         |
| H              | 16      | 21                      | 24       | 1,5                           | 3,7                        |
| C-Curarin I    | 30      | 35                      | 50       | 1,7                           | 4                          |
| K              | 30      | 40                      | 60       | 2,0                           | 5,5                        |
| A              | 70      | 100                     | 150      | 2,1                           | 2                          |
| F              | 75      | 85                      | 120      | 1,6                           | 1,3                        |
| I              | 174     | 180                     | 195      | 1,1                           | 2,75                       |
| C-Calebassin   | 240     | 260                     | 320      | 1,3                           | 3                          |
| C              | 240     | 280                     | 380      | 1,6                           | 2,75                       |
| B              | 280     | 310                     | 350      | 1,25                          | 1,3                        |
| J              | 290     | 460                     | 560      | 1,9                           | 1,5                        |
| D              | 1100    | 1600                    | 2000     | 1,8                           | 1,3                        |
| Fluorocurarin  | 1800    | 2100                    | 4000     | 2,2                           | 2                          |
| L              | 1900    | 2200                    | 2400     | 1,3                           | 2                          |
| Fluorocurinin  | 2750    | 2900                    | 3250     | 1,2                           | 1,2                        |
| Fluorocurin    | 4400    | 5500                    | 8000     | 1,9                           | 1,5                        |
| C-Calebassinin | 22000   | 25000                   | 44000    | 2,0                           | 0,3                        |

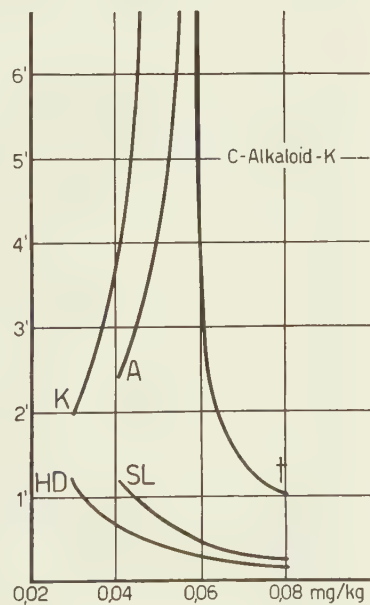
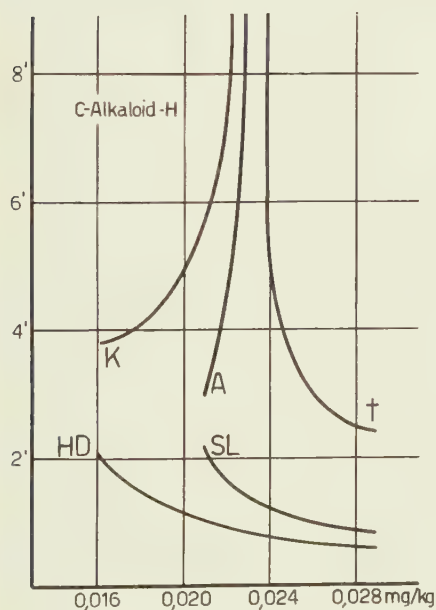
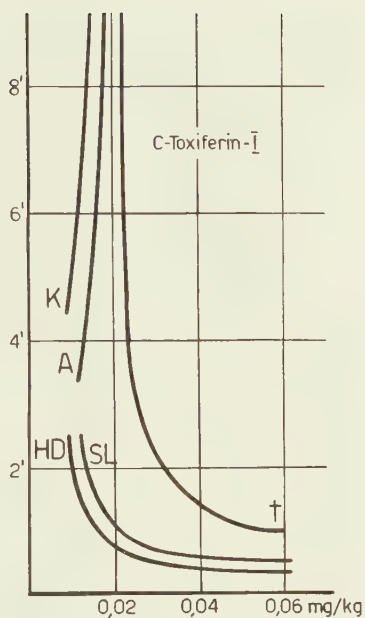
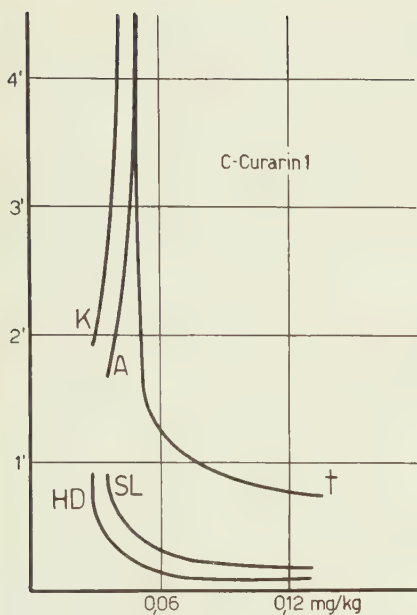


Abb. 6. Lähmungskurven verschiedener Alkaloide bei Mäusen. Ordinate: Zeit bis Eintritt des Symptoms (Minuten), Abszisse: Dosis i.v., HD: Head-drop, SL: Seitenlage, K: Kopfbeugen, A: Aufrichten, †: Tod.

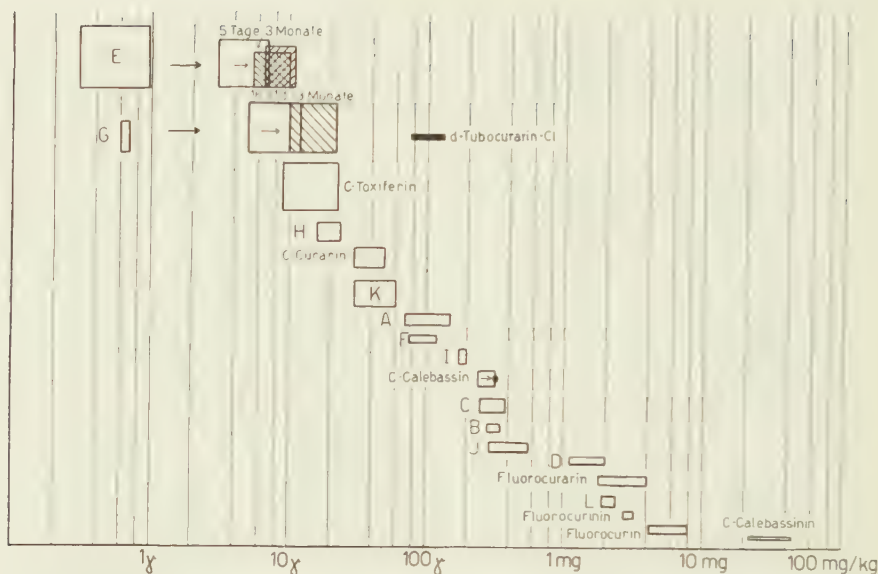


Abb. 7. Wirkung der Calebassenalkaloide im Maustest. Abszisse: HD-Dosis und minimale Letaldosis, Ordinate: Lähmungsdauer (in log. Maßstab) einer in der Mitte liegenden Dosis (vgl. Tab. 3). Die Größe der Flächen läßt daher therapeutische Breite (Abszisse) und Lähmungsdauer (Ordinate) vergleichen.

In Abb. 7 sind die gleichen Zahlenwerte graphisch so dargestellt, daß in der Abszisse mit logarithmischer Teilung HD-Dosis und minimale Letaldosis, in der Ordinate die Lähmungsdauer (in logarithmischem Maßstab) der in der Mitte liegenden Dosis eingetragen sind. Jedem Alkaloid entspricht daher eine rechteckige Fläche, deren Ordinate die therapeutische Breite und deren Abszisse die Intensität der Lähmung charakterisiert. Alkaloide mit großen Flächen sind für die Curarisierung von Mäusen besonders geeignet, da sie eine starke paralytische Wirkung und eine große therapeutische Breite zeigen. Dies betrifft vor allem C-Curarin I, C-Toxiferin I, C-Alkaloide E, G, K. 7 der untersuchten Alkaloide sind stärker wirksam als d-Tubocurarinchlorid, z. B. C-Alkaloid E 250mal, C-Alkaloid G 120mal.

Interessanterweise wurden 2 Alkaloide (E und G) gefunden, die bedeutend aktiver sind als C-Toxiferin, das bis dahin wirksamste bekannte Alkaloid. Ihre Lähmungswirkung war jedoch nicht konstant, sondern nahm für beide während der Untersuchung anfänglich rasch, später langsam bis zu einem ziemlich stabilen Endwert ab. Abb. 8 zeigt den Aktivitätsabfall einer bei  $\gamma$  2 C aufbewahrten Lösung von C-Alkaloid E (ausgezogene Kurven), wobei für das HD-Symptom die Menge in  $\gamma$ /kg logarithmisch auf der Abszisse und die Zeitdauer bis zum Eintritt des HD auf der Ordinate in Minuten eingetragen sind. Schon nach 5 Stunden ist die Aktivität auf die Hälfte abgesunken, nach 5 Tagen beträgt sie noch  $1/10$  und bleibt erst nach etwa 2 3

Monaten einigermaßen konstant. Beim Versuch, diesen Aktivitätsabfall durch erneutes Auflösen von fester Substanz zu wiederholen, stellten wir fest, daß auch diese ihre Aktivität in gleichem Maße verloren hatte. Die (gestrichelte) *HD-Kurve* der 14 Tage nach dem ersten Test aufgelösten kristallinen Verbindung fällt ungefähr mit der nach 2 Monaten aufgenommenen *HD-Kurve* der ersten Testlösung zusammen. Die zweite Lösung zerfiel mit gleicher Geschwindigkeit wie die erste, so daß die Aktivitäten auch nach 2,5 bzw. 3 Monaten übereinstimmten. Wurde das inzwischen 3 Monate alte kristalline Alkaloid über  $P_2O_5$  im Hochvakuum bei Zimmertemperatur oder  $56^\circ C$  getrocknet, war in beiden Fällen die gleiche, etwas verminderte Wirkung zu finden (punktierte Kurve). Bei diesem Aktivitätsabfall, der

sich für das *C'-Alkaloid G* in analoger Weise aber etwas rascher (in 16 Stunden auf  $1/10$ , in 3 Monaten auf  $1/15$ ) vollzieht (Abb. 8), zeigte auch die Wirkungscharakteristik (therapeutische Breite und Lähmungsdauer) eine entsprechende Abnahme. Wie aus Abb. 8 hervorgeht, werden bei *C'-Alkaloid E* die *HD-Kurven* mit der Zeit in ihrer Form verändert. Lähmungsdauer, therapeutische Breite und damit die Gesamtfläche (Abb. 7) sind verkleinert; bei *C-Alkaloid G* vergrößert sich die Fläche und die Charakteristik wird verbessert.

Werden die minimal paralytischen *HD-Dosen* ( $D_{HD}$ ) des Alkaloids *E* (Abb. 8) gegen die zugehörigen Zerfallszeiten in doppelt logarithmischem Maßstab aufgetragen, liegen die Meßpunkte auf einer Geraden. Die mathematische Interpretation derselben ergibt eine Potenzfunktion:

$$D_{HD} = 0,3 \times t^{0,472}$$

in der die Zerfallszeit  $t$  in Stunden einzusetzen ist. Die Formel sagt über den Zerfallsmechanismus nichts aus und soll nur zeigen, daß die Aktivitätsverminderung gesetzmäßig vor sich geht.

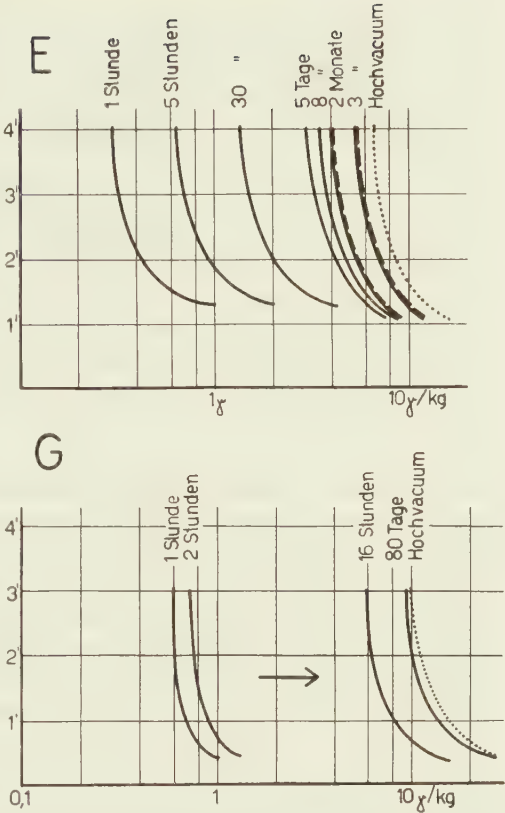


Abb. 8. Aktivitätsabfall der C-Alkaloide E und G mit der Zeit. *HD-Kurven* bei Mäusen (vgl. Abb. 6).

Der Abfall erfolgt bis zum 8. Tag nach dieser Funktion und ist erst später (vielleicht weil dann die Alkaloidlösung bei  $-30^{\circ}$  aufbewahrt wurde) merklich verzögert. Die ursprüngliche Aktivität der Alkaloide E und G könnte demzufolge sehr wohl höher als die gefundenen ersten Werte sein. Möglicherweise wurden diese Alkaloide auf uns unbekannte Weise vorübergehend aktiviert und waren bei der Prüfung in einem labilen Zustand vorhanden.

| $t$    | $D_{HD}$ berechnet | $D_{HD}$ gefunden |
|--------|--------------------|-------------------|
| 1 h    | 0,3                | 0,3               |
| 5 h    | 0,64               | 0,64              |
| 30 h   | 1,48               | 1,40              |
| 120 h  | 2,86               | 3,0               |
| 192 h  | 3,57               | 3,50              |
| 1440 h | 9,25               | 4,0               |

Für *C-Toxiferin* haben wir mit dem neuen an Cellulose chromatographierten Material eine etwas geringere Aktivität als 1950 gefunden. Der Grund dazu liegt wahrscheinlich in der früher spurenweisen Beimengung von Alkaloid E, wie kürzlich durch Papierchromatographie einer alten Probe gezeigt werden konnte. Schon 1950 stellten wir nach einigen Wochen eine Veränderung der Wirkungscharakteristik für *C-Toxiferin* fest, die wohl auf dem Zerfall des beigemischten Alkaloids E beruhte. Die Aktivität des reinen *C-Toxiferins* bleibt auch in Lösung über Jahre erhalten.

Für diese drei wirksamsten Curarestoffe ist, verglichen mit den andern Curarealkaloiden, im Maustest besonders auffällig, daß nach der Injektion kleiner Dosen die Lähmung sehr langsam eintritt und überaus lange dauert. Man könnte sich dabei vorstellen, daß das Alkaloid zuerst für eine Lähmung in zu geringer Konzentration an der Endplatte vorhanden ist und erst später sukzessive aus dem Blutstrom und der Gewebeflüssigkeit in der myoneuronalen Schaltstelle angereichert wird. Ein chemischer Umbau kommt wohl kaum in Frage, da alle drei Alkaloide bei Katzen größtenteils unverändert ausgeschieden werden.

Auch die Alkaloide C-Curarin, H und K haben eine bedeutende Aktivität. *C-Curarin I* hat seine Aktivität gegenüber früher nicht verändert. *C-Alkaloid K* ist für Mäuse und Katzen mit dem *C-Dihydrotoxiferin* pharmakologisch identisch. Die uns von Wieland zur Verfügung gestellte Probe war auch nach Umkristallisieren, wahrscheinlich durch geringe Verunreinigung, etwas weniger aktiv als unsere Verbindung.

Wegen Substanzmangel mußte die Wirkung der Alkaloide H, I, J mit der wässrigen Lösung, die für Spektrographie verwendet wurde, geprüft werden. Kontrollen nach Eindampfen und Wiederlösen ergaben konstante Werte.

Das im Hochvakuum getrocknete *C-Calebassin* zeigte gegenüber 1950 eine um  $\frac{1}{5}$  verminderte Lähmungswirkung. Durch Stehen an der Luft (Wasser-aufnahme!) sinkt die Aktivität noch etwas weiter ab, und das Alkaloid wird

dadurch so toxisch, daß alle Mäuse mit Lähmungszeichen nach etwa 1 Minute durch Atmungslähmung (zentral ?) starben. Der Wirkungscharakter hat sich total verändert; die Toleranzbreite ist praktisch auf Null zusammengeschumpft.

*C-Calebassinin* lähmt nur für kurze Zeit (ca. 30–60 Sek.) curareartig.

Die Alkaloide der *Fluorogruppe* (Fluorocurin, Fluorocurinin) bewirken die schon früher beschriebene Erregung mit Krämpfen, bevor die Tiere bei genügender Dosierung vollständig gelähmt werden. Es kann zur Zeit noch nicht entschieden werden, ob es sich dabei um zentrale oder periphere Effekte handelt.

Die 19 untersuchten Alkaloide sind also pharmakologisch keineswegs gleich: Die Aktivitäten variieren in einem Intervall von 0,3 $\gamma$  bis 50 mg/kg, was etwa einem Verhältnis von 1:10<sup>5</sup> entspricht. Wie im folgenden Abschnitt gezeigt wird, sind auch andere Eigenschaften, wie Charakter der Lähmung, Nebenwirkungen usw., nicht gleichartig.

Bemerkenswert ist bei den wirksamen Alkaloidgruppen die Parallelität zwischen den papierchromatographisch ermittelten R<sub>c</sub>-Werten, die proportional dem Verteilungskoeffizienten zwischen organischem Lösungsmittel und wässriger Phase sind, und den HD-Dosen (Tab. 2 im chemischen Teil). Die Curarewirksamkeit nimmt mit Kleinerwerden des R<sub>c</sub> zu. Rasch wandernde Alkaloide wie C-Fluorocurin, C-Fluorocurin, C-Fluorocurin, Calebassinin und C-Alkaloid L zeigen nur eine sehr geringe paralytische Wirkung.

### C. Kaninchenversuche

Für die Alkaloide, von denen genügend Substanz zur Verfügung stand (C-Toxiferin, C-Curarin, Calebassin), bestimmten wir bei Kaninchen mittleren Gewichtes (2,2–3,5 kg) die Head-drop-Dosis (Varney, Linegar, Holaday, 1949).

Tabelle 4  
Paralytische Wirkung bei Kaninchen (i.v. Dosen mg/kg).

|               | HD (30–60 Sek.)              | HD (3 Min.)                | DLM    |
|---------------|------------------------------|----------------------------|--------|
| C-Toxiferin I | 0,0038<br>(0,0035 $\pm$ 24%) | 0,004<br>(0,004 $\pm$ 20%) | 0,0075 |
| C-Curarin I   | 0,02<br>(0,020 $\pm$ 20%)    | 0,025<br>(0,025 $\pm$ 15%) | 0,035  |
| C-Calebassin  | 0,085<br>(0,085 $\pm$ 13%)   | 0,10<br>(0,095 $\pm$ 10%)  | 0,135  |

Eingeklammerte Werte von Gysling, 1953, bestimmt.

Um kumulative Effekte zu vermeiden, wurden zwischen den Versuchen jeweils 2–3 Ruhetage für die Tiere eingeschaltet. Bei der minimalen HD-Dosis dauerte der HD 30–60 Sekunden. Zu Vergleichszwecken wurde jeweils auch die Menge bestimmt, die einen HD von 3 Minuten bewirkt. Bei etwa der 1,15fachen HD-Dosis tritt Seiten-

lage, bei der 1,35–1,9fachen Dosis Atmungsstillstand ein. Den Tod der vollständig gelähmten Tiere verhinderten wir durch künstliche Atmung. Die Lungen wurden unter Zuführung von Sauerstoff, der mittels eines Gummikatheters oberhalb des Larynx einströmte, mit geringem Überdruck rhythmisch aufgebläht.

Neben der Lähmung der quergestreiften Muskulatur zeigten sich noch andere Symptome, die auf eine teils parasymphatische, bei höheren Dosen eher sympathische Erregung schließen ließen: Salivation, Defäkation und leichte Miosis wurden bei allen drei Alkaloiden, besonders bei Curarin und Calebassin, beobachtet. Mit zunehmender Asphyxie stellte sich Exophthalmus mit Mydriasis ein.

Auch hier scheint Bewegung den Lähmungseintritt zu beschleunigen. Durch Laufenlassen der Tiere kann die Zeit bis zum Eintritt der Curarisierung um 10%<sub>0</sub> verkürzt und die Lähmungsdauer selbst um 10%<sub>0</sub> verlängert werden.

### *Quantitative Beziehungen im Antagonismus Curare-Prostigmin*

Die Lähmungswirkung der Alkaloide Toxiferin, C-Curarin, Calebassin wird durch Prostigmin im Kaninchenversuch prompt aufgehoben. Dies ist wohl teilweise durch Erhöhung der lokalen AcetylcholinKonzentration an den Synapsen bedingt. Für Prostigmin ist eine Doppelwirkung bekannt, indem die Cholinesterase und damit der Abbau des Acetylcholins an der Endplatte gehemmt, und andererseits die cholinergischen Rezeptoren im Muskel stimuliert werden (Riker und Wescoe, 1946). In höheren Dosen wirkt Prostigmin selbst curarisierend. Es besteht aber in dieser Hinsicht zwischen Kalt- und Warmblütern ein deutlicher Unterschied, da nach Raaijlaub (1950) das isolierte Froschmuskelpreparat für den Curareeffekt eine 200fache «antagonistische» Prostigmin-Dosis (Konz.  $10^{-3}$ ) braucht, während z. B. mit Tubocurarin verglichen schon die 2,4fache, den HD verhin dernde Prostigmin-Menge ( $2,4 \times 0,05$  mg/kg Kaninchen) Curarewirkung zeigt (Chase, Schmidt und Bhattacharya, 1947). Warmblüter sind anscheinend für Prostigmin viel empfindlicher. Es ist daher wesentlich, diesen Antagonismus im Hinblick auf eine therapeutische Verwendung der Alkaloide dosismäßig genau zu erfassen.

In 105 Versuchen wurde bei 10 Kaninchen die Prostigmin-Dosis (vgl. Dissertation Gysling) für die Aufhebung verschieden starker Lähmungszustände (kurzdauernden und dreiminütigen HD, Seitenlage und Atmungslähmung) bestimmt. Die berechnete Alkaloidmenge wurde in einem kleinen Flüssigkeitsvolumen (1 ml) innerhalb 10 Sekunden in eine Ohrvene injiziert. Nach Eintritt der gewünschten Lähmung wurde Prostigmin langsam (innerhalb 1 Minute) durch die gleiche Nadel nachgespritzt und die Dosis bestimmt, die innerhalb 30–90 Sekunden nach Injektionsbeginn das vorliegende Curarisierungsstadium aufhebt. Für die HD-Grenz dosis läßt sich die antagonistische Prostigmin-Dosis allerdings nur durch Extrapolation berechnen, da das Kaninchen spontan den Kopf rasch wieder abhebt.

Wir fanden, daß die Wirkung von einer Gewichtseinheit C-Toxiferin I durch 6,5 ( $\pm 25\%$ ), die von C-Curarin I durch 4,0 ( $\pm 20\%$ ) und von C-Calebassin durch 0,35 ( $\pm 17\%$ ) Gewichtseinheiten Prostigmin aufgehoben wird. Die Relation ist vom HD bis zum Atmungsstillstand proportional. Stärkere Lähmungen verlangen ungefähr mit dem Quadrat der Alkaloiddosis ansteigende Prostigmin-Mengen. Eine demgegenüber geringe Überdosierung von Prostigmin hat einen rascheren Eintritt der antagonistischen Wirkung zur Folge: 1,5fache Dosis verkürzt um 50%. Bei der doppelten Dosis wird der HD jedoch bereits verlängert, und die Nebenwirkungen (vermehrte Salivation, Defäkation und Miosis) werden deutlicher. Die 5fache Dosis verdoppelt die Dauer des HD<sub>3</sub> Min und ist ihrerseits durch nochmalige Curareinjektion nicht beeinflussbar.

Auch bei diesen Versuchen wurde minimal eine zweitägige Pause für das gleiche Tier eingeschaltet, obwohl sich Kaninchen in Kontrollexperimenten innerhalb einer Stunde dreimal decurarisieren ließen, ohne daß die Prostigmin-Dosen zur Erzielung der gleichen Effekte hätten verändert werden müssen. Die Fixation der Curarealkaloide an den Endplatten scheint daher nicht sehr dauerhaft zu sein (s. später).

#### D. Katzenversuche

Zur eingehenden Prüfung der pharmakologischen Wirkungen wurden Katzen verwendet, welche auf Curare ähnlich wie Menschen reagieren. Kaninchen haben eine geringere Empfindlichkeit und liegen, was die Muskel lähmung betrifft, zwischen Maus und Katze. Sie werden daher besser zur übersichtsmäßigen Aktivitätsbestimmung (HD-Test von *Holaday*) verwendet, falls genügend Substanz zur Verfügung steht.

*Versuchsanordnung:* Intraperitonealnarkose mit Dial-Nembutal 60 mg/kg eines 3/2-Gemisches. Kontrolle des Carotisblutdruckes mit Hg-Manometer und der Atmung mittels eines seitlich an die Trachealkanüle angeschlossenen weitrohrigen Wassermanometers mit Paraffinschwimmer. Prüfung der blockierenden Wirkung der Alkaloide auf die sympathischen Synapsen des Ganglion cervicale cranialis. Zu diesem Zwecke wurde das Ganglion auf der Gegenseite der kanülierten Carotis möglichst schonend freigelegt und vom darüberliegenden Ganglion nodosum abgetrennt. Alle Gefäßverbindungen zum Ganglion wurden intakt gelassen und eventuelle kleinere Blutungen, z. B. infolge der Entfernung von darüberliegenden Lymphknoten, sorgfältig gestillt. Unter den präganglionären Sympathicus legten wir eine dünne Gummilamelle zur vollständigen Isolierung der in Plexiglas eingefassten Silberelektrode, die dicht vor das Ganglion zu liegen kam. Die Reizung erfolgt mit einem Funkeninduktorium (Primärstrom 4 V) alle 2–3 Minuten während 10–20 Sekunden. Als Erfolgsorgan benützten wir die Membrana nictitans, die mit einem isotonischen Schreibhebel verbunden war. Zudem legten wir den Vagus beidseits frei, um eine spätere faradische Reizung oder Durchtrennung zu ermöglichen.

Die Muskelkontraktionen der Mm. gastrocnemius und soleus wurden nach Durchtrennung der Achillessehne mit einem isotonischen Hebel auf der gleichen Rußkurve registriert. Die Reizung des N. tibialis erfolgte alle 15 Sekunden durch  $\frac{1}{2}$  Sekunde dauernde Stromstöße von 2 Volt Spannung. Das Hebegewicht betrug 30–50 g, die

Hebellänge 18 cm. Bei vollständig gelähmter Atmung wurde das Tier mit Hilfe einer Palmerpumpe mit 1,2 l/min durch die Trachealkanüle künstlich beatmet.

Zur Verhinderung von Gefäßthrombosen injizierten wir 1–2mal 1000 E Liquemin Roche i.v.

Das zum Vergleich benützte d-Tubocurarinchlorid wurde uns in freundlicher Weise von der Firma *Burroughs, Wellcome and Co., London*, zur Verfügung gestellt.

Die Versuche dauerten 5–8 Stunden.

### 1. Lähmungswirkungen auf die Muskulatur

Bei 14 Calebassenalkaloiden war genügend Substanz vorhanden, um ihre Lähmungswirkung zu untersuchen. Mit einzelnen Alkaloiden (J, I, Fluorocurin, Calebassinin) konnte wegen der geringen Aktivität nur eine Injektion gemacht werden. Die Lähmungswirkung ist bei Katzen stärker als bei Mäusen und Kaninchen. Natürlich darf der HD dieser Tiere nicht ohne weiteres mit der beginnenden Lähmung der Beinmuskulatur verglichen werden, aber

Tabelle 5

| Alkaloid      | Versuchszahl | m.p.D. <sup>1</sup> | p.D. <sup>2</sup> | t <sub>p.D.</sub> <sup>3</sup> | t <sub>xp.D.</sub> <sup>4</sup> |             | Atmungslähmung <sup>5</sup> | Prostigmin <sup>6</sup> | Faradisieren <sup>7</sup> | Anoxämie <sup>7</sup> |
|---------------|--------------|---------------------|-------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------------|-----------------------------|-------------------------|---------------------------|-----------------------|
|               |              |                     |                   |                                | x                               | t           |                             |                         |                           |                       |
| C-Alkaloid E  | 4            | 2,0                 | 5,0               | 90                             |                                 |             | 5,0                         | 125                     | +                         |                       |
| C-Alkaloid G  | 3            | 2,0                 | 13,0              | 40                             |                                 |             | 10,0                        | 50                      |                           |                       |
| C-Toxiferin I | 9            | 3,0                 | 5,4               | 100                            | 18,5<br>46                      | 8 h<br>16 h | 5,2                         | 135                     | +                         | +                     |
| C-Alkaloid H  | 2            | 4,0                 | 12,0              | 70                             | 4,2                             | 2 h         | 9,0                         | 120 ?                   |                           | +                     |
| C-Curarin I   | 9            | 5,0                 | 18,0              | 60                             | 10<br>20                        | 3 h<br>6 h  | 17,0                        | 45                      | +                         | +                     |
| C-Alkaloid K  | 3            | 15,0                | 40,0              | 60                             | 2,5                             | 1,4 h       | 40,0                        | 140                     |                           |                       |
| C-Alkaloid A  | 2            | 40,0                | 130               | 30                             |                                 |             | 100,0                       | 50                      |                           |                       |
| C-Alkaloid F  | 1            | 50,0                | 150               | 20                             |                                 |             | 150                         |                         |                           |                       |
| C-Alkaloid I  | 1            |                     | 160               | 30                             |                                 |             | 130                         |                         |                           |                       |
| Calebassin    | 5            | 60                  | 150               | 20                             | 2,7                             | 1 h         | 180                         | 75–150                  | +                         |                       |
| C-Alkaloid B  | 1            | 100                 | 250 ?             |                                |                                 |             | 160                         | 75                      |                           |                       |
| C-Alkaloid J  | 1            | 600                 |                   |                                |                                 |             |                             |                         |                           |                       |
| Calebassinin  | 1            | >900                |                   |                                |                                 |             |                             |                         |                           |                       |
| Fluorocurin   | 1            | >1200               |                   |                                |                                 |             |                             |                         |                           |                       |
| Tubocurarin   | 3            | 12                  | 90                | 50                             | 20                              | 5 h         | 65                          | 30                      |                           | +                     |

<sup>1</sup> m.p.D. = minimal paralytische Dosis (in  $\gamma$ /kg).

<sup>2</sup> p.D. = paralytische Dosis (in  $\gamma$ /kg).

<sup>3</sup> t<sub>p.D.</sub> = Lähmungsdauer bei p.D. (Min.)

<sup>4</sup> t<sub>xp.D.</sub> = Lähmungsdauer bei x-facher p.D. (Stunden)

<sup>5</sup> Atmungslähmungsdosis in  $\gamma$ /kg.

<sup>6</sup> Prostigmin-Dosis ( $\gamma$ /kg) zur Antagonisierung der p.D.

<sup>7</sup> Wiedererscheinen der Muskelkontraktionen nach Faradisieren des N. ischiadicus oder Anoxämie.

auch zur vollständigen Paralyse mit Stilllegung der Atmung braucht die Katze kleinere Dosen als die Maus.

Als minimal paralytische Dosis (m.p.D.) bezeichneten wir die Menge, die die registrierten Gastrocnemiuskontraktionen deutlich verkleinert; die paralytische Dosis (p.D.) lähmt den Muskel vollständig.

Am stärksten wirksam waren wieder die *C-Alkaloide* E und G (Tab. 5). Bei beiden konnte nur die Verbindung mit stabilisierter Aktivität (s. Mäusetest) untersucht werden. Die Wirkung trat bei E ähnlich wie beim Toxiferin langsam ein, um dann lange Zeit konstant zu bleiben. Nach i.v. Injektion der paralytischen Dosis sistieren die Gastrocnemiuskontraktionen nach etwa 15-20 Minuten vollständig, und die ursprüngliche Kontraktionshöhe wird erst in 1-2 Stunden wieder erreicht (Abb. 9). Bei mehrfach paralytischen Dosen dauert die Lähmung stundenlang. Bei G tritt die Lähmung rascher (10 Min.) ein, um bald wieder (nach 30-50 Min.) zurückzugehen (Abb. 10).

Durch Prostigmin wird die Paralyse beider Alkaloide aufgehoben. Zur Antagonisierung der p.D. braucht es 300-500  $\gamma$  Prostigmin. Auch Acetylcholin i.v. hat eine analoge antagonistische Wirkung auf die Muskelerregbarkeit.

Die Lähmung der Atmungsmuskulatur setzt oft bei kleineren Mengen als der p.D. ein. Bei Alkaloid G sahen wir eine Atmungslähmung schon nach 5  $\gamma$ /kg, während die Muskulatur erst nach 12  $\gamma$ /kg indirekt vollständig unerregbar war. Vielleicht spielen hier zentral depressive Wirkungen eine Rolle.

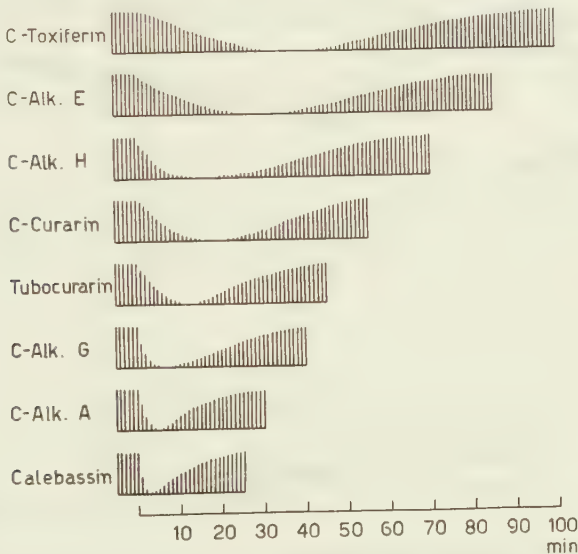


Abb. 9. Lähmungsdauer des Katzengastrocnemius bei der paralytischen Dosis (i.v.). Ischiadicusreizung alle 15 Sek. Es sind nur die Muskelkontraktionen jeder Minute eingezeichnet.

Abb. 10-15. Lähmungswirkung im Katzenversuch. M: Muskelkontraktionen (Gastrocnemius) alle 15 Sek., A: Atmung, B: Blutdruck (Carotis mm Hg), Mn: Kontraktionen der Membrana nictitans, S: Signal der präganglionären Sympathicusreizung alle 2-3 Min., T: Minuten. Alle Injektionen intravenös.

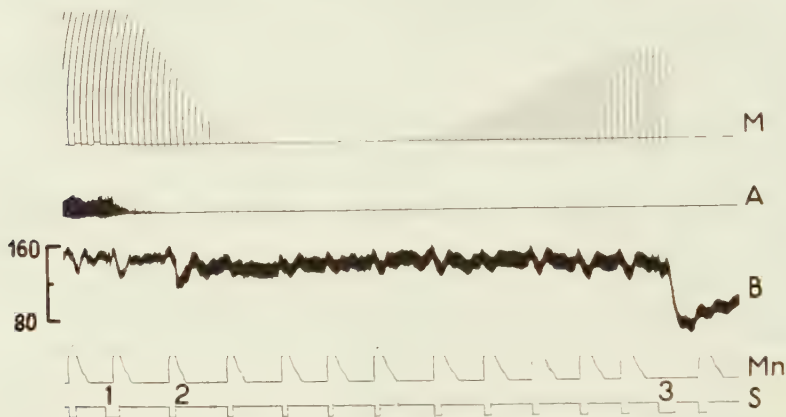


Abb. 10. 1: 10  $\gamma$ /kg C-Alkaloid G, 2: künstliche Atmung, 3: 40  $\gamma$ /kg C-Alkaloid G.

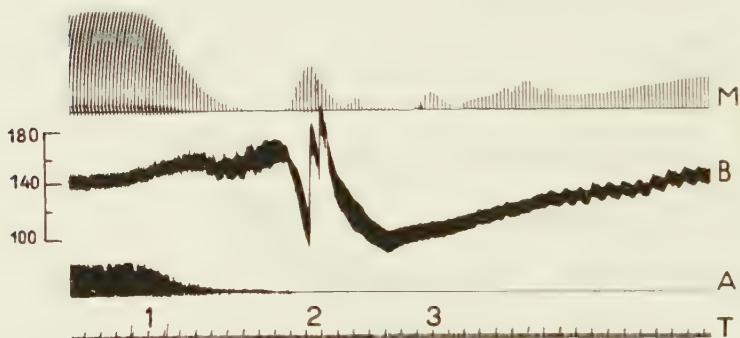


Abb. 11. 1: 6  $\gamma$ /kg C-Toxiferin I, 2: künstliche Atmung, 3: faradische Ischiadicusreizung.

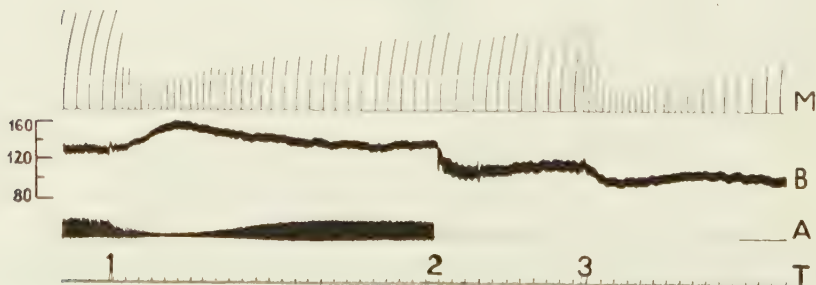


Abb. 12. 1: 17  $\gamma$ /kg C-Curarin I, 2: künstliche Atmung, 3: 17  $\gamma$ /kg C-Curarin I.

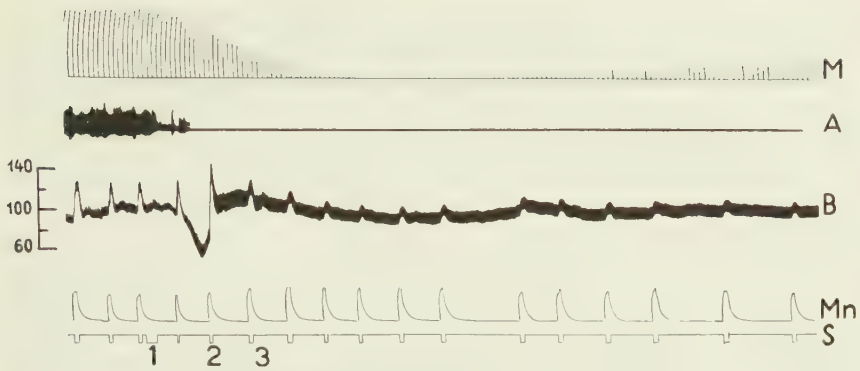


Abb. 13. 1: 10  $\gamma$ /kg C-Alkaloid H, 2: künstliche Atmung, 3: 1000 E. Liquemin.

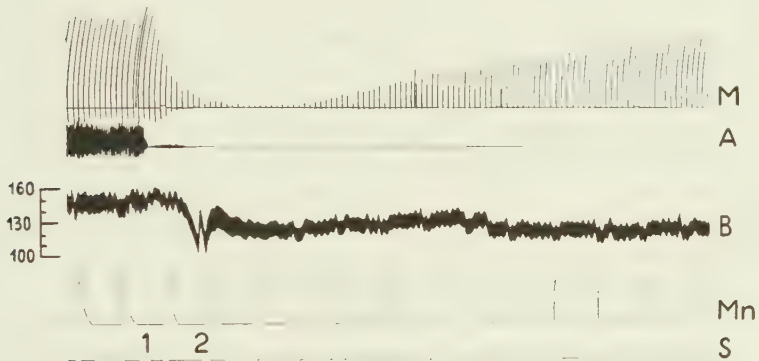


Abb. 14. 1: 100  $\gamma$ /kg C-Alkaloid A, 2: künstliche Atmung.

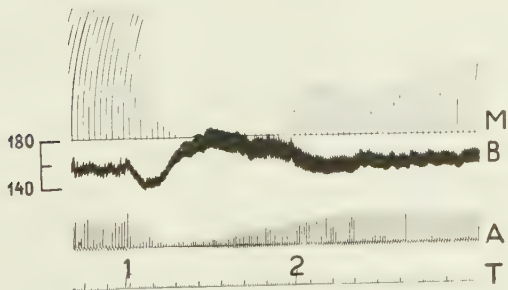


Abb. 15. 1: 210  $\gamma$ /kg C-Calebassin, 2: faradische Ischiadicusreizung.

*C-Toxiferin I* ist etwa gleich stark wirksam wie diese beiden Alkaloide. Bei 10 Katzen wurde immer wieder eindrucklich die langsam einsetzende und sich verstärkende Lähmung festgestellt, die dann bei höheren Dosen stundenlang unverändert fortbesteht. Für die p.D. braucht es 20–30 Minuten, bis der Muskel vollständig paralysiert ist, und die Erholungszeit bis zur ursprünglichen Kontraktionshöhe dauert an die 2 Stunden. Nach 20fach tödlicher Dosis (20 p.D.) bleibt die vollständige Lähmung 8 Stunden, nach 50 p.D. über 16 Stunden bestehen.

Mit Prostigmin kann die Lähmung frühzeitig aufgehoben werden, wenn auch häufig die ursprüngliche Kontraktionshöhe nicht mehr zurückkehrt. Zur Antagonisierung einer p.D. bedarf es durchschnittlich 0,15 mg/kg Prostigmin. Die Atmungsmuskulatur wird häufig vor der vollständigen Gastrectemiuslähmung stillgelegt, so daß künstliche Beatmung notwendig ist. Der Unterschied ist jedoch nicht besonders groß, außer bei besonders empfindlichen Tieren. Nach *Faradisierung* des peripheren Teils des N. tibialis kehrt bei nicht zu starker Lähmung die indirekte Erregbarkeit für kürzere Zeit zurück (Abb. 11). Es treten erneut kleinere, deutliche Muskelkontraktionen auf, die bald wieder verschwinden. Dieses Phänomen kann erst nach einer Pause wiederholt werden. Die *Anoxämie* bei Verschlechterung der Atmung hat einen ähnlichen Effekt auf die Erregbarkeit des Muskels. Wir haben in zahlreichen Fällen beobachtet, daß bei zunehmender Lähmung der gesamten Muskulatur die Atemexkursionen parallel dazu abnehmen. Wenn dann der Atmungsstillstand eingetreten ist, werden die Muskelkontraktionen plötzlich wieder größer, um erst nach Einsetzen der künstlichen Atmung vollständig zu verschwinden (Abb. 11).

Auch *C-Curarin* besitzt eine beachtliche Lähmungswirkung auf die quergestreifte Muskulatur, die 2–3mal so stark wie diejenige des Tubocurarins ist. Die Dauer der Lähmung ist kürzer als mit Toxiferin oder C-Alkaloid E (Abb. 12). Die Kontraktionshöhe des Muskels nimmt ziemlich rasch ab und erreicht bei der p.D. nach etwa 60 Minuten wieder die ursprüngliche Höhe. Nach der 10fachen p.D. intravenös dauert die totale Lähmung über 3 Stunden, nach der 20fachen p.D. rund 6 Stunden. Das sind unverhältnismäßig lange Zeiten, wenn man sie mit dem raschen Rückgang der Lähmung bei kleineren Dosen vergleicht. Grund dafür kann eine verminderte Ausscheidung nach größeren Mengen sein (s. später). Die Atmungsmuskulatur wird gleichzeitig mit dem übrigen Bewegungsapparat vollständig gelähmt und macht künstliche Beatmung notwendig.

Bei intramuskulärer Injektion der Curaridlösung tritt die Wirkung etwa 5mal, nach subcutaner Applikation 10mal langsamer ein. Die Atmung steht dann vor der totalen Lähmung der Extremitätenmuskeln still (s. später).

*C-Nor-Curarin* zeigt auch in hohen Dosen (1,2 mg/kg) keine Lähmungswirkung.

*C-Alkaloid H* ist noch etwas stärker wirksam als C-Curarin. Die Wirkung tritt rasch ein; die Lähmung dauert lang (Abb. 13). Die Atmungsmuskulatur

wird sehr bald betroffen, was die therapeutische Breite verkleinert. Bei Anoxämie ist der quergestreifte Muskel auf indirekten Reiz wieder erhöht empfindlich. Prostigmin wirkt als Antidot.

*C-Alkaloid K*, identisch mit C-Dihydrotoxiferin (*Wieland*), zeigt übereinstimmende Wirkung auch im Katzenversuch. Der zeitliche Verlauf der Lähmungswirkung ist demjenigen von Curarin vergleichbar (Abb. 26). Die Lähmung setzt ziemlich rasch ein und dauert nach einer p.D. etwa 60 Minuten bis zur vollständigen Erholung. Die Atmung wird etwa gleichzeitig gelähmt, so daß ohne künstliche Atmung eine gute Toleranzbreite zu erwarten ist. *C-Alkaloid A* ist schwächer wirksam als C-Alkaloid K, in der Lähmungsdauer ähnlich G (Abb. 14). Die Atmungsmuskulatur wird bald gelähmt. Beide Alkaloide (A und K) werden durch Prostigmin antagonisiert.

*Calebassin* stand uns in größerer Menge zur Verfügung, so daß einige Katzenversuche (5) durchgeführt werden konnten. Wie wir schon früher feststellten, ist die Wirksamkeit gering und rasch vorübergehend (Abb. 15). Aus diesem Grund braucht es größere Mengen als die p.D., um die Atmungsmuskulatur während einiger Zeit vollständig zu lähmen. Das Tier erholt sich nach der kurzdauernden vollständigen Muskellähmung ohne künstliche Beatmung. Erst bei höheren Dosen wird die Atmungslähmung zeitlich so verlängert, daß apparativ beatmet werden muß. Eine langdauernde Wirkung ist kaum erreichbar. Faradisierung des versorgenden Nerven bewirkt vorübergehende Erregbarkeitssteigerung der Endplatten, so daß wieder einzelne Zuckungen auftreten.

Alle übrigen in der Tabelle angeführten Alkaloide konnten nur in Einzelversuchen geprüft werden. *F*, *I*, *B* sind wenig, *J*, *Calebassinin* und *Fluorocurin* sehr schwach wirksam. Auch die Intensität der Lähmung ist nicht groß. Prostigmin wirkt, soweit wir untersuchen konnten, immer antagonistisch. Die Atmung wird verschieden stark beeinflusst.

Das bisher bekannteste Curarealkaloid *d-Tubocurarinchlorid* zeigt im Vergleich zu den beschriebenen neuen Naturstoffen eine mittelstarke Wirksamkeit und eine Intensität, die etwa dem Curarin entspricht. Der Wirkungscharakter ist gleich.

## 2. Blutdruckwirkungen

Wir haben schon früher unterschiedliche Kreislaufwirkungen für C-Toxiferin, C-Curarin und Calebassin beschrieben. Die genaue Analyse der Blutdruck- und Pulswerte zeigt dies neuerdings für die in Tab. 6 zusammengefaßten Substanzen. Bei Toxiferin, Curarin und Calebassin konnte die Herzwirkung auch elektrokardiographisch verfolgt werden.

Da die *Blutdruckwirkung* eines Curarealkaloids von der asphyktischen Drucksteigerung infolge der gleichzeitig einsetzenden Atmungslähmung überlagert wird, ist unbedingt erforderlich, daß sie bei künstlicher Atmung untersucht wird (Abb. 12). Im allgemeinen liegt dabei der Blutdruck etwas tiefer als bei Normalatmung und hat eine größere Amplitude. Das hängt

Tabelle 6

| Alkaloid      | Versuchs-<br>zahl | Blut-<br>druck-<br>senkende<br>Dosis<br>( $\gamma$ kg) | Blutdruck (mm) bei          |                                      | Ganglionblockade ( $\gamma$ /kg) |                |                            |
|---------------|-------------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|----------------|----------------------------|
|               |                   |                                                        | para-<br>lytischer<br>Dosis | totaler<br>Ganglion-<br>blockdosis   | symp.<br>partiell                | symp.<br>total | para-<br>symp.<br>partiell |
| C-Toxiferin I | 7                 | 150                                                    | 0                           | (250 $\rightarrow$ -30) <sup>2</sup> | 200-250                          | >250           | >300                       |
| C-Alkaloid H  | 2                 | 50                                                     | 0                           | (50 $\rightarrow$ -15) <sup>2</sup>  | 50                               |                | 30                         |
| C-Alkaloid K  | 3                 | 40                                                     | 10                          | -30                                  | 45                               | 140            | 160                        |
| C-Alkaloid E  | 4                 | 20                                                     | 15 <sup>1</sup>             | -50                                  | 40                               | 120            |                            |
| C-Alkaloid G  | 3                 | 15                                                     | -10 <sup>1</sup>            | -50                                  | 40                               | 150            | 100                        |
| C-Curarin I   | 10                | 15                                                     | -30                         | -50                                  | 40                               | 140            | 100                        |
| Calebassin    | 3                 | 100                                                    | -30                         | -60                                  | 150                              | 500            | -                          |
| C-Alkaloid A  | 2                 | 40                                                     | -20                         |                                      | 200                              |                |                            |
| C-Alkaloid F  | 1                 | 150                                                    | -20                         |                                      | 150                              |                |                            |
| C-Alkaloid I  | 1                 | 130                                                    | -20?                        |                                      |                                  |                |                            |
| C-Alkaloid B  | 1                 | 20                                                     | -60                         |                                      | 30                               | 200            | 160                        |
| Tubocurarin   | 3                 | 10                                                     | -30                         | -60                                  | 130                              | 900            |                            |

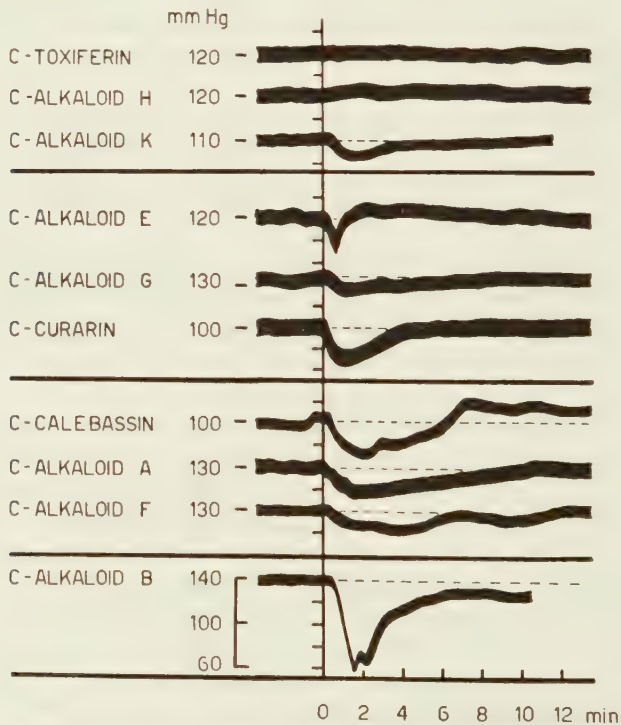
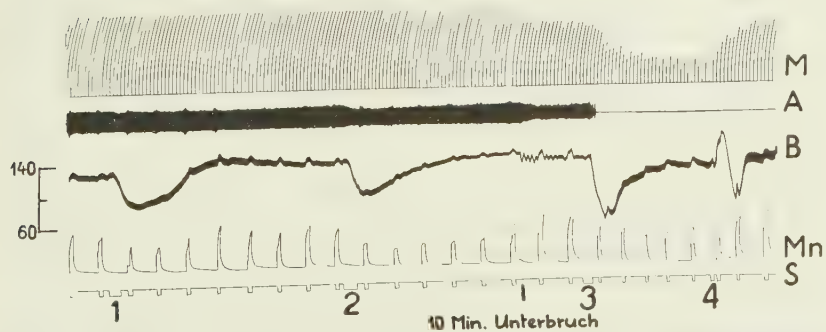
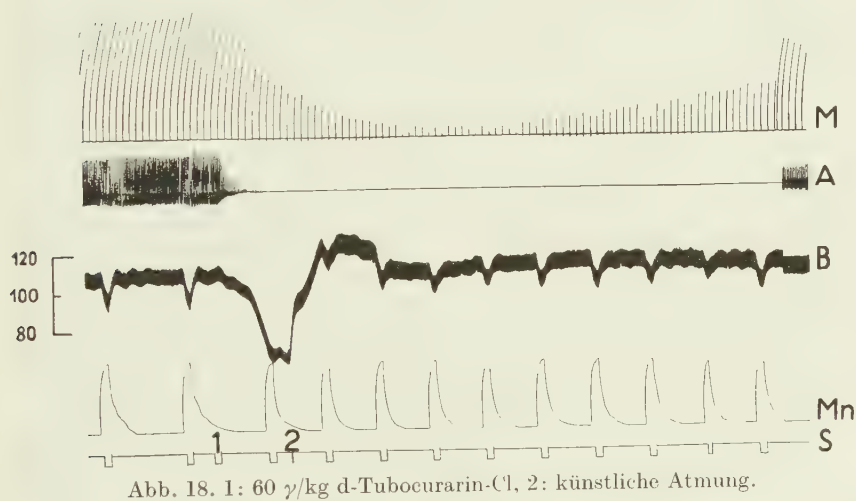
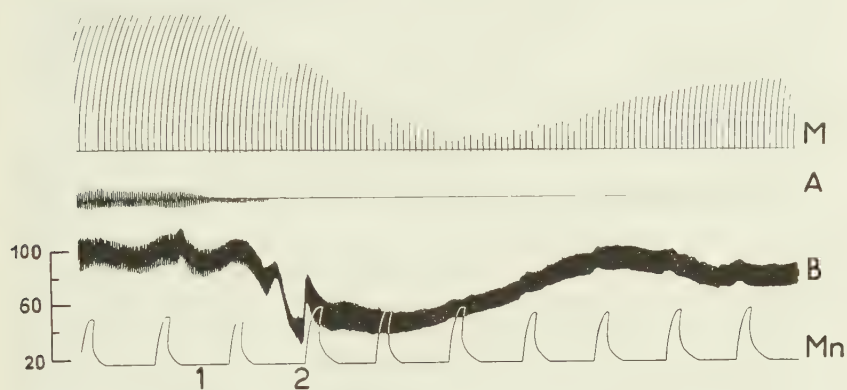
<sup>1</sup> In einem Versuch.<sup>2</sup> Totale Ganglionblockdosis liegt höher.

Abb. 16. Blutdruckwirkung der paralytischen Dosis (i.v.) bei künstlicher Atmung.

Abb. 17–19. Blutdruckwirkung einiger C-Alkaloide (vgl. Legende Abb. 10–15).  
Alle Injektionen intravenös.



mit einer geringen Überbeatmung zusammen, da das eingestellte Atemvolumen pro Minute (1,2 l) etwas zu groß ist. Asphyktische Blutdruckveränderungen sind aber so sicher ausgeschlossen. Ferner treten bei der Stimulierung des präganglionären Sympathicus durch Mitreizung pressorischer oder depressorischer Fasern häufig Druckschwankungen auf (Abb. 13 und 18). Bei der Auswertung der Kurven ist dies zu berücksichtigen.

Was die Blutdruckwirksamkeit anbetrifft, können vier Gruppen unterschieden werden, die der Einteilung nach chemischer Konstitution entsprechen (Abb. 16, Tab. 6). In der ersten sind die wirksamen Alkaloide *Toxiferin*, H und K enthalten, die den Druck innerhalb der paralytischen Dosis nicht oder kaum verändern. Für eine Blutdrucksenkung sind größere Mengen als bei der zweiten Gruppe notwendig. Zur zweiten gehören die Stoffe, die den Blutdruck schon unterhalb der paralytischen Dosis für kurze Zeit (2–4 Min.) deutlich senken und sich in dieser Beziehung dem Tubocurarinchlorid (Abb. 18) ähnlich verhalten (C-Curarin, C-Alkaloide E und G). Bei den schwach aktiven Curarestoffen der dritten Gruppe war oft zu wenig Substanz vorhanden, um diese Wirkung eingehend zu prüfen. Alle wirken jedoch schon bei der paralytischen Dosis für längere Zeit (6–8 Min.) deutlich blutdrucksenkend. Bei C-Alkaloid B konnten wir sogar Blutdrucksenkungen mit kleineren Dosen, als sie zur Muskellähmung notwendig sind, feststellen. Eine direkt (nicht durch Asphyxie) bedingte Drucksteigerung fehlte bei allen untersuchten Alkaloiden.

Die stark lähmenden Alkaloide E, G, H, K und *Toxiferin* haben geringe Kreislaufwirkungen. Bei *Toxiferin*, C-Alkaloid H, E (in 3 von 4 Fällen) und G (in 2 von 3 Versuchen) fehlten Druckveränderungen innerhalb der paralytischen Dosis (bei künstlicher Atmung!). Für *Toxiferin* stellten wir erst nach Injektion einer 50mal p.D. eine Senkung von 30 mm fest (Abb. 25), und auch bei C-Alkaloid H ist dazu die 4fache p.D. notwendig. *Dihydrotoxiferin* (K) stellt einen Grenzfall dar, indem es den Druck ähnlich wie H beeinflusst, aber 3–4mal schwächer curareaktiv ist.

Die *Curaringruppe* wirkt schon bei kleineren Dosen depressiv. Da Curarin selbst eine mittelstarke Lähmung bei etwa der gleichen Dosis bewirkt, ist diese immer von Blutdrucksenkungen begleitet (Abb. 17). Tubocurarinchlorid verhält sich analog (Abb. 18). Für die C-Alkaloide G und E trifft dies wegen ihrer enormen Wirksamkeit nicht in gleichem Maße zu. Erst bei höheren Dosen konnten wir einen Abfall in vereinzelten Fällen feststellen. Besonders für E kann gelten, daß innerhalb der 10–50fachen p.D. kaum je Blutdrucksenkung eintritt.

Bei der *Catebassingruppe*, welche viel schwächer paralytisch wirksame Alkaloide umfaßt, tritt die Kreislaufwirkung erst mit höheren Dosen, d. h. zusammen mit der paralytischen Wirkung, ein. Hier sind Kreislauffeffekte depressorischer Natur immer zu erwarten.

*Alkaloid B* ist ein Ausnahmefall, indem hier, wie wir später sehen werden, das Ganglion cervicale superior vor den Muskelendplatten gelähmt wird.

Dementsprechend treten schon bei kleinen Dosen beträchtliche Blutdruckabfälle ein (Abb. 19).

Adrenalin führt nach Curarisierung mit diesen Alkaloiden immer zum gewohnten Blutdruckanstieg. Acetylcholin hat, wie wir in einzelnen Versuchen feststellten, starken Blutdruckabfall mit Frequenzverlangsamung zur Folge. Atropinisierung bewirkt bei Curarin I keine Verminderung der Blutdrucksenkung, bei *Calebassin* ist sie eher verstärkt. Durchschneiden beider Vagi ergibt bei diesen Alkaloiden ebenfalls keine Abschwächung der Blutdruckdepressionen.

Aus diesen Beobachtungen ist zu schließen, daß die Blutdrucksenkung nicht Folge einer peripher sympatholytischen Wirkung dieser Alkaloide ist. Sie wird wohl zur Hauptsache durch eine ganglionäre Sympathicusblockade verursacht, wie im folgenden Abschnitt gezeigt werden soll. Gleichzeitig könnte es sich um einen mehr oder weniger starken *Histamineffekt* handeln. Für einige Alkaloide, wie *Tubocurarin*, wurde die Freisetzung von Histamin aus dem Gewebe nachgewiesen (*Reid* [1950], *Grob*, *Lilienthal*, *Harvey* [1947]). Toxiferin ruft nach *Paton* und *Perry* intradermal beim Menschen die typische dreifache Cutanreaktion hervor.

### 3. Ekg. und Herzfrequenz

Bei 8 Katzen verfolgten wir die kardiale Wirkung von *C-Toxiferin I*, *C-Curarin I* und *Calebassin* bei natürlicher und künstlicher Atmung (durch Trachealkanüle) mit einem Kathodenstrahloszillographen. Gleichzeitig wurde der Carotisdruk blutig registriert. (Narkose: Dial-Nembutal.)

Im gesamten sind die elektrokardiographischen Veränderungen sehr gering und dürften zur Hauptsache durch die die Curarisierung begleitende Anoxämie bedingt sein. Daneben kommen die Wirkungen dieser Alkaloide auf das autonome Nervensystem am Herzen zur Geltung (vgl. nächsten Abschnitt). Irgendeine Lähmungswirkung auf den Herzmuskel ist gleich wie bei anderen Curarestoffen nicht nachweisbar. Überleitung und Erregungsausbreitung sind normal.

Durch *C-Toxiferin I* wird die Herzfrequenz nicht stark beeinflusst. Der regelmäßige Sinusrhythmus besteht auch nach intravenösen Dosen bis 13  $\gamma$ /kg weiter. P und Überleitung (PQ = 0,08 Sek.) sind unverändert. Der QRS-Komplex bleibt 0,02 Sek. breit. Nach längerer Zeit (1–2 Std.) tritt eventuell eine stärkere Knotung und eine Verlagerung der elektrischen Herzachse nach links auf (Abb. 20). Einen einwandfreien Block konnten wir nie feststellen. Zwischenstück und T können infolge der Anoxämie, die durch die Atmungslähmung bedingt ist, gesenkt werden. Gleichzeitig nimmt die in Abb. 20 anfänglich gesteigerte Herzfrequenz stark ab. T<sub>1</sub> war von Anfang an abgeflacht und teilweise leicht negativ, ohne daß ein Linkstyp vorlag (leichte Anoxämie, Myokardschädigung durch Narkose?). 10 Minuten nach 4,5  $\gamma$ /kg Toxiferin I zeigt sich eine zunehmende Bradykardie mit deutlicher Negativierung von T<sub>1</sub> und T<sub>2</sub>, die sich mit Hilfe künstlicher Beatmung wieder

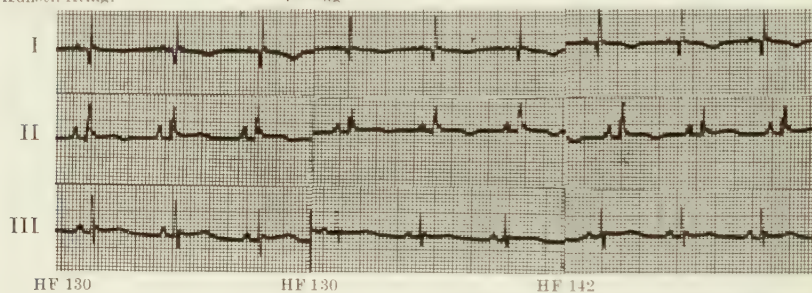
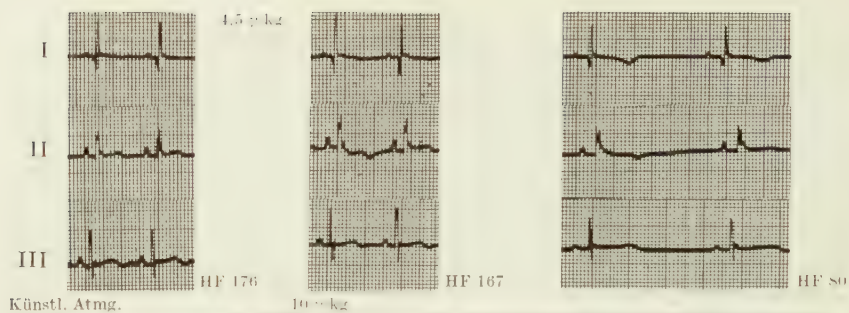


Abb. 20. Ekg. bei der Katze in Ableitung I, II, III nach C-Toxiferin I i.v.  
HF = Herzfrequenz.

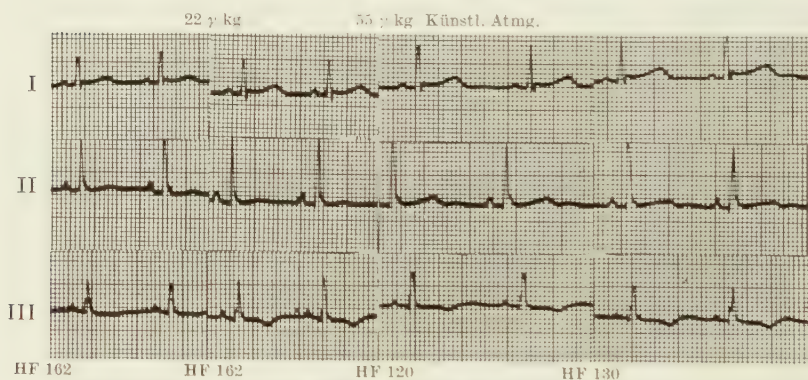


Abb. 21. Ekg. nach C-Curarin I.

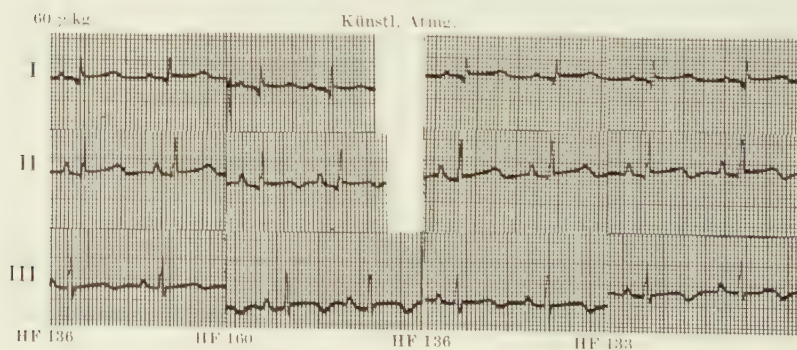


Abb. 22. Ekg. nach C-Calebassin.

zurückbildet. Die Herzaktion wird nach 10  $\gamma$ /kg etwas beschleunigt. T ist nicht mehr flach, sondern in der ersten Ableitung verschieden stark negativ und schwankt in der zweiten Abteilung oft biphasisch zwischen positiven und negativen Werten. QT bleibt unverändert. Möglicherweise handelt es sich um eine *Acceleranswirkung*: es kann aber auch ein Folgezustand der vorherigen Myokardanoxie sein (die Herzlage wird durch die künstliche Atmung kaum beeinflußt). Alle diese geringen Veränderungen bilden sich bald wieder zurück. Den Einfluß höherer, ganglionblockierender Dosen (200  $\gamma$ /kg) konnten wir leider nicht untersuchen.

Auch *C-Curarin I* ruft intravenös nur geringe Veränderungen des Ekg. hervor. P wird durch die Frequenzabnahme bei zunehmender Curarisierung etwas erniedrigt und PQ von 0,08 auf 0,1 Sek. verlängert. Die T-Schwankung tritt in allen Ableitungen verstärkt hervor (Abb. 21). QT wird ebenfalls wenig verlängert (0,2–0,24 Sek.). Gleichzeitig sinkt die Schlagfrequenz deutlich ab, so daß von einem *vagalen* Einfluß auf die Herzmotorik gesprochen werden kann. Nach einiger Zeit normalisieren sich diese Veränderungen wieder. Die Anoxämie bewirkt wieder ST-Senkung und Negativierung von T<sub>3</sub>.

Nach intravenösen Injektionen von *Calebassin* tritt synchron mit der Blutdrucksenkung eine Beschleunigung der Herztätigkeit ein (Abb. 22). Das QT-Intervall ist relativ verlängert, und T wird in Ableitung 1 abgeflacht, in Ableitung 2 und 3 negativ, auch wenn die künstliche Atmung einige Zeit bestanden hat. Später richtet sich das T teilweise wieder auf und wird in Ableitung 2 biphasisch. Die gleichen Veränderungen, die eventuell einer Coronarverengung entsprechen, treten nach *Histamininjektion* auf (*Leitner und Steinlin* [1943]), so daß die Vermutung naheliegt, der starke Blutdruckabfall nach *Calebassin* komme zum Teil durch Freisetzung von Histamin zustande.

#### 4. Wirkungen auf das autonome Nervensystem

Bei curarewirksamen Substanzen, welche an den Endplatten die Verbindung zwischen Nerv und Muskel blockieren, ist zu erwarten, daß mit höheren Dosen auch andere Synapsen des Nervensystems gelähmt werden. Es scheint dies eine allgemeine Eigenschaft quartärer Ammoniumbasen zu sein. Die Muskellähmung ist nur durch die relativ bevorzugte Besetzung der nervösen Endorgane gegenüber andern Schaltstellen Hauptsymptom. Die Nebenwirkungen der meisten Curarestoffe bestehen daher zur Hauptsache in den Folgen der Lähmung autonomer Systeme: Blutdruckveränderungen, Wechsel des Herz- und Atmungsrythmus usw. Wir haben im vorangehenden Abschnitt über einige Kreislaufwirkungen bei höheren Alkaloidmengen berichtet, die wenigstens teilweise eine solche Ursache haben können. Zur genaueren Analyse war es deshalb notwendig, die Wirkung am autonomen Nervensystem direkt zu prüfen. Es wurde darauf verzichtet, die Untersuchung am isoliert durchströmten sympathischen Ganglionpräparat (*Kibjakov* [1933]) vorzunehmen, da es uns vor allem darauf ankam, zuerst die

differenzierten Wirkungen auf Endplatte und sympathische Synapsen bei derselben intravenösen Dosis zu vergleichen.

Die ganglionären Lähmungsdosen für die minimale und vollständige Beeinträchtigung der Nickhautkontraktionen sind in Tab. 6 zusammengestellt. Bei der *Toxiferin*-Gruppe entsprechen die ersteren den minimal blutdruckwirksamen Mengen; bei den *Curarin*- und *Calebassing*-Gruppen braucht es für die Sympathicusblockade etwas größere Dosen. Möglicherweise wird hier die Blutdrucksenkung schon bei kleineren Mengen durch Histamineffekte ausgelöst.

Bei allen Alkaloiden kann durch entsprechende Dosierung die Überleitung im Ganglion vermindert werden. Wir haben die quantitativen Verhältnisse  $\left( \frac{\text{Ganglionblockdosis}}{\text{Endplattenparalysedosis}} \right)$  in einer möglichst großen Zahl von Versuchen für die beiden Grenzen – beginnende (= partielle) und totale Lähmung – untersucht (Tab. 7).

Tabelle 7

| Alkaloid           | Verhältnis der<br>Ganglionblockdosis<br>zur Endplatten<br>paralysierenden Dosis<br>(aus Tabelle 6) |        |
|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
|                    | Synapsenlähmung                                                                                    |        |
|                    | partielle                                                                                          | totale |
| C-Toxiferin I      | 80                                                                                                 |        |
| C-Alkaloid E       | 20                                                                                                 | 24     |
| C-Alkaloid G       | 20                                                                                                 | 12     |
| C-Alkaloid H       | 12                                                                                                 |        |
| C-Curarin I        | 8                                                                                                  | 8      |
| C-Alkaloid A       | 5                                                                                                  |        |
| C-Alkaloid K       | 3                                                                                                  | 3,5    |
| C-Alkaloid F       | 3                                                                                                  |        |
| Calebassin         | 2,5                                                                                                | 3,3    |
| C-Alkaloid B       | 0,3                                                                                                | 0,8    |
| Tubocurarinchlorid | 11                                                                                                 | 10     |

Die Bestimmung der partiellen Paralyse ist genauer als die der vollständigen Lähmung. Sie braucht weniger Substanz, was bei den seltenen Alkaloiden mehr Versuche ermöglichte, und wird am Anfang des Versuches beim frischen Präparat durchgeführt. Für die vollständige Ganglionblockade fehlte uns bei verschiedenen Stoffen die notwendige Menge. Die beiden Verhältniszahlen der Tabelle stimmen größenordnungsmäßig für ein Alkaloid überein, so daß wir annehmen dürfen, daß die Überdosierung zur Ganglionlähmung proportional der Muskelparalyse ist. Vielleicht braucht das Ganglion für die vollständige Blockade noch höhere Dosen (die zweite Verhältniszahl ist meist etwas größer als die erste), was jedoch in weiteren Versuchen für die obere Grenze zu überprüfen wäre.

Diese Verhältniszahlen zeigen sehr deutlich die Elektivität der Alkaloide in bezug auf ihre Wirkung an den Endplatten.

*Toxiferin I* steht hier weit an der Spitze. Das gleiche Resultat haben wir auch bei Verfolgung des Blutdrucks festgestellt, der durch Toxiferin nicht oder erst bei sehr hohen Dosen beeinflusst wird (Abb. 23 und 25). Dieses Alkaloid scheint daher durch seine Elektivität die geringsten Nebenwirkungen zu haben. Ähnlich verhalten sich die *C-Alkaloide E, G und H* (Abb. 10 und 13). *C-Curarin* entspricht etwa dem *Tubocurarin*, wie wir das schon früher feststellten (Abb. 17, 18 und 24).

Die andern Alkaloide sind wenig elektiv. Bei *C-Alkaloid B* kehrt das Verhältnis sogar um, indem hier das Ganglion vor der Endplatte gelähmt wird (Abb. 19). Dosen unterhalb der m.p.D. rufen Blutdrucksenkungen hervor. Man kann hier also eher von einem «Ganglionblocker» als einer Curare-substanz sprechen.

Der funktionelle Test an parasympathischen Ganglien ist wesentlich schwieriger, da sie meist sehr nahe beim oder im Erfolgsorgan liegen. Isolierte Reizung der präganglionären Faser und Registrierung des Erfolges bereiten Schwierigkeiten. Am günstigsten sind dafür die Ganglionzellen der Submaxillardrüse gelegen, deren cholinergische, präganglionäre Fasern in der Chorda tympani verlaufen. Eine Synapsenblockade wird nach Reizung derselben einen verminderten Speichelfluß zur Folge haben. *Paton und Perry* (1951) stellten eine deutliche Abnahme der Speichelsekretion nach 50  $\gamma$  Toxiferin I fest. Die gleichzeitig mitregistrierte, präganglionäre stimulierte Membrana nictitans wurde in der Kontraktionshöhe nur wenig verändert. Auch nach *Tubocurarin* war der Speichelfluß vermindert, woraus die Autoren schlossen, daß die parasympathischen Ganglienzellen der Speicheldrüsen empfindlicher auf blockierende Pharmaka als die sympathischen Ganglienzellen des Nickhautapparates seien. Auch wir haben bei einigen Alkaloiden eine verminderte Sekretion aus dem Ductus submaxillaris gefunden. Erst einige Stunden nach der Injektion oder nach Prostigmin kam die Sekretion wieder zustande. Es wurden keine quantitativen Messungen durchgeführt.

Als einfachstes Kriterium einer parasympathischen Blockade wurde der Vaguseinfluß auf die Herzstätigkeit verfolgt. Die faradische Reizung des linken Halsvagus bewirkt neben einer Verlangsamung der Herzfrequenz eine Blutdrucksenkung (Abb. 23 und 25). Die Lähmung der peripheren parasympathischen Synapsen durch unsere Curarealkaloide zeigt sich in der Verminderung bis Aufhebung dieser Vaguseffekte (Abb. 24). Aus dem gleichen Grund werden auch die depressorischen Blutdruckeffekte, die sich nach Reizung der präganglionären Halssympathicus oft zeigen, bei zunehmender Curarisierung kleiner (Abb. 18).

Die peripheren Ganglien des Herzvagus werden bei hohen Dosen ebenfalls blockiert. Es ist jedoch schwierig, diesen Effekt quantitativ zu bewerten, da vagale Pulsverlangsamung und Blutdrucksenkung nicht immer gleich beeinflusst werden. Wir haben daher die Verminderung eines dieser Symptome als deutliches Blockadezeichen verwertet. Die hierfür notwendigen Dosen sind höher als für die sympathische Blockade (Tab. 6).

Abb. 23–26. Wirkungen auf das autonome Nervensystem. Präganglionäre Sympathicusreizung alle 2 Min. (vgl. Legende Abb. 10–15). Alle Injektionen intravenös.

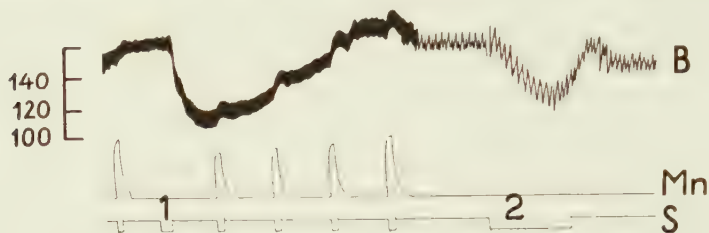


Abb. 23. 1: 300  $\gamma$ /kg C-Toxiferin I, 2: Vagusreizung (vgl. Abb. 24).

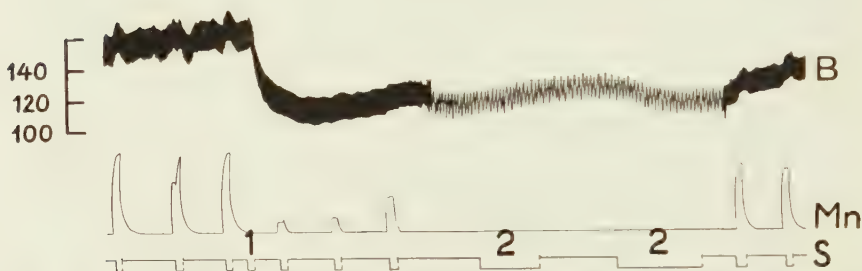


Abb. 24. 1: 100  $\gamma$ /kg C-Curarin I, 2: Vagusreizung bei rasch laufendem Kymographen. Sympathicusreizung alle 2 Minuten.

Hohe Alkaloiddosen werden daher vermutlich das gesamte autonome Nervensystem auf der Höhe der letzten Schaltstellen weitgehend lahmlegen. Davon wird vor allem die Kreislaufregulierung betroffen.

### 5. Zentrale Wirkungen

Seit Curare pharmakologisch eingehend untersucht wird, besteht eine Unsicherheit in der Bewertung der direkten, zentralen Effekte. Da bis heute keine Calebasen-Reinalkaloide zur Verfügung standen und immer wieder mehr oder weniger gereinigte Curaregemische verwendet wurden, ist die Diskussion darüber noch nicht abgeschlossen. Leider konnten wir keine entsprechenden Versuche ausführen. Nach intravenöser oder parenteraler Injektion der von uns geprüften Alkaloide ist uns keine besondere Erregung der Tiere aufgefallen. Bei Mäusen haben wir 1950 nach intravenöser Injektion von *Fluorocurinjodid* einen motorischen Erregungszustand mit erhöhter Ansprechbarkeit auf sensorische Reize (akustische, taktile) festgestellt. *Fluorocurinin* zeigte eine geringere, ähnliche Wirkung, die bei *Fluorocurarin* (C-Curarin III) fehlte. Bei größeren Dosen trat die bekannte Curarelähmung ein. Für weitere Versuche fehlten die notwendigen Substanzmengen.

Schon Tillie (1890/91) demonstrierte mit Böhm's «Curarin», daß die darin

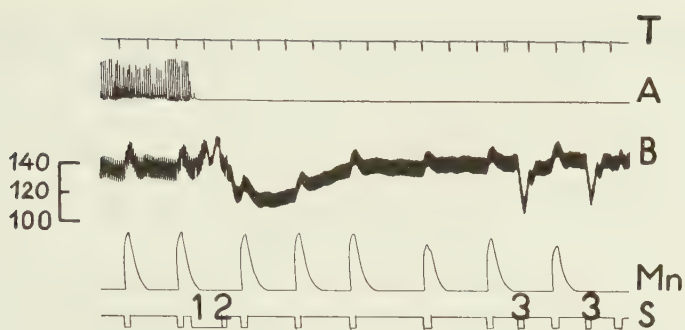


Abb. 25. 1: 250  $\gamma$ /kg C-Toxiferin I, 2: künstliche Atmung, 3: Vagusreizung.

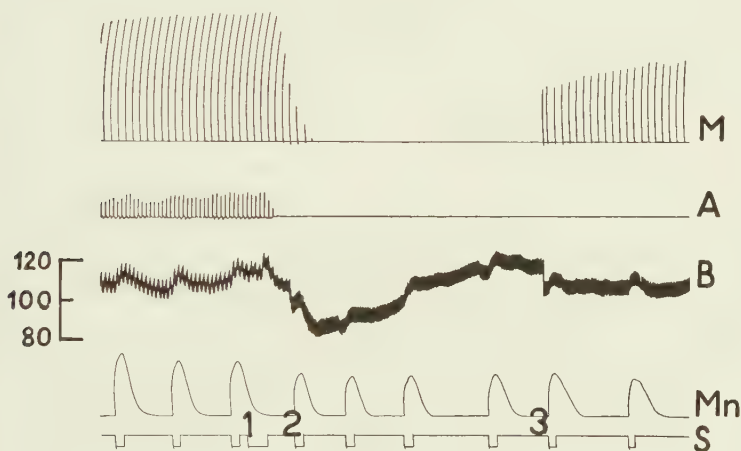


Abb. 26. 1: 50  $\gamma$ /kg C-Alkaloid K, 2: künstliche Atmung, 3: 10 Min. Unterbruch.

enthaltenen Alkaloide bei direkter Einwirkung auf das Rückenmark von Fröschen oder nach intraaortaler Injektion Konvulsionen hervorrufen. Diese Wirkung wurde später auch für Säugetiere mit andern Curarestoffen demonstriert (McGuignan [1916], Stern und Rothlin [1918], Santesson [1920]). Salama und Wright (1951) untersuchten ein Calebassencuraregemisch von H. King, das eine halb so starke periphere Muskellähmung wie Tubocurarin bewirkte. Bei intraventrikulärer oder intrazisternaler Injektion (Katzen) zeigten sich Hyperreflexie, tonische und klonische Bewegungen. Die Atmung wurde deutlich stimuliert, während der Blutdruck nur unbedeutend und zum Teil durch die Asphyxie bedingt anstieg. Die Tätigkeit der Speichel-, Tränen- und Bronchialdrüsen war so verstärkt, daß die Trachea durch dicken Schleim vollständig verstopft sein konnte. Durch intrathekale Injektion wurden die spinalen Zentren direkt erregt. Einige Calebassenalkaloide scheinen daher gleich wie Tubocurarinchlorid eine zentrale Er-

regungswirkung zu besitzen, die der peripheren Lähmungswirkung gegenübersteht. Sie wird durch lokale Atropin-, Acetylcholin-, Prostigmin-Applikation verkleinert oder vollständig verhindert.

Andererseits haben zahlreiche Forscher (*B. und P. Chauchard* [1949], *Marrazzi* [1951], *Feitelberg und Pick* [1942], *Pick und Uuna* [1945], *McIntyre* [1947], *Scott* [1947]) festgestellt, daß Curare (besonders Tubocurarin) auch bei großen intravenösen oder subcutanen Dosen eine zentrale Hemmwirkung zeigt. Elektroencephalographisch ist oft anfänglich eine kurzdauernde Aktivitätssteigerung der Hirnströme vor der Depression nachweisbar. Auch corticale Chronaxiemessungen lassen auf zentralnervöse Hemmung nach einer Erregungsphase schließen. Mit einem isolierten Zwerchfellstreifen, der vom Tier aus über den Phrenicus innerviert wird, konnten *Eichholtz und Taugner* 1951 verminderte Phrenicusreize vom Zentrum aus nach Tubocurarin demonstrieren. Es muß daher bei allen Curarealkaloiden, die rasch zu einer Atmungslähmung führen, neben einer besonderen Empfindlichkeit der peripheren Synapsen der Atmungsmuskulatur doch an eine zentrale Atmungslähmung gedacht werden.

## 6. Resorption, Verteilung und Ausscheidung

Für den quantitativ genauen Nachweis eines typischen Alkaloides aus Calebassen in Organen und Exkreten markierten wir C-Curarin mit  $C^{14}$ , indem wir die gut abspaltbare quartäre Methylgruppe durch das radioaktive  $C^{14}H_3$ -Radikal ersetzten (*H. Schmid, K. Schmid, P. Waser und A. Ebnöther* [1952]). Zudem ist die Curarewirksamkeit einiger Alkaloide (E, G, H, K, C-Curarin, C-Toxiferin) so bedeutend, daß auch der biologische Maustest (s. früher) zur Mengenbestimmung im Urin verwendet werden kann. Bei C-Curarin ergab sich in Parallelversuchen zwischen radioaktiven und biologischen Bestimmungswerten eine gute Übereinstimmung.

### a) Resorption

Die Resorption aus einem Depot in der Subcutis oder im Muskel untersuchten wir mit C-Curarin. Die Muskeleerregbarkeit sinkt entsprechend der steigenden Blutkonzentration langsam, und die registrierte Kontraktionshöhe wird kleiner. Nach *subcutaner* Injektion von 35  $\gamma$ /kg Curarin (= 2 p.D.) tritt die vollständige Muskellähmung erst nach 45 Minuten, in etwa 4mal längerer Zeit als bei i.v. Injektion, ein (Abb. 27). Die Atmung steht schon nach 20 Minuten still. Der früher besprochene *Anoxämieeffekt*, der die Muskelkontraktionen vorübergehend erhöht, ist deutlich erkennbar. Da die Resorption aus dem Depot weiter geht, dauert die Lähmung längere Zeit an. Nach  $2\frac{1}{2}$ -3 Stunden hat sich der Muskel wieder vollständig erholt.

*Intramuskuläre* Injektion lähmt rascher, entsprechend der beschleunigten Resorption. Mit 300  $\gamma$ /kg ist die vollständige Paralyse nach etwa 10 Minuten erreicht, d. h. es braucht intramuskulär die 15fache Menge wie intravenös,



Abb. 27. Resorption von 0,035 mg/kg C-Curarin I subcutan (1), 2: künstliche Atmung, x: Unterbruch.

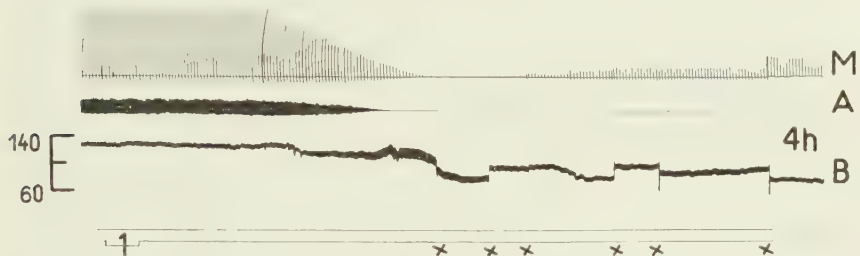


Abb. 28. Resorption von 1,35 mg/kg Radio-C-Curarin I enteral (1). x: Unterbruch.

um die gleiche Wirkung zu erzielen. Natürlich hält sie bedeutend länger an. Durch Prostigmin ist sie leicht antagonisierbar.

Wie schon die ersten pharmakologischen Versuche im 18. Jahrhundert ergaben, ist die Lähmung verschiedener Tiere, insbesondere von Vögeln, auch durch *enterale* Verabreichung größerer Curaremenngen möglich. Wir führten einen entsprechenden Versuch mit 5,0 mg Radiocurarin durch, das wir mittels eines Magenschlauches in Lösung in den Magen brachten (Abb. 28). Die Lähmung begann nach 12-13 Minuten, wurde rasch stärker und dauerte eine Stunde. In der Folgezeit nahm sie langsam ab. Der Blutdruck war gesenkt. Versuche mit 5 mg Tubocurarin ergaben eine deutliche, aber viel geringere Lähmung. Die Kontraktionshöhe des Muskels war nur um 25% vermindert. C-Curarin wird daher in nicht zu vernachlässigenden Mengen enteral resorbiert.

#### b) Verteilung

Mit Radiocurarin konnte die Alkaloidkonzentration in zahlreichen Organen im Verlaufe der intravenösen Curarisierung untersucht werden. In 3 Versuchen wurden bei Katzen die inneren Organe nach 45 bzw. 135 und 200 Minuten herausgenommen, gewogen und kleine Stücke davon naß verascht (*Van Slyke* [1951]). Das entstehende radioaktive  $\text{CO}_2$  wurde als Bariumcarbonat gefällt und die Radioaktivität im Flow-counter, d. h. in einem mit Heliumalkohol gefüllten Zählrohr, bestimmt. Aus der spezifischen Aktivität des injizierten Radiocurarins ist die Alkaloidkonzentration im Gewebe bestimmbar (*P. Waser, H. Schmid, K. Schmid* [1953]). Zum besseren Vergleich wurden alle Resultate auf eine Injektionsmenge von 1 mg/kg umgerechnet (Abb. 29 und 30).

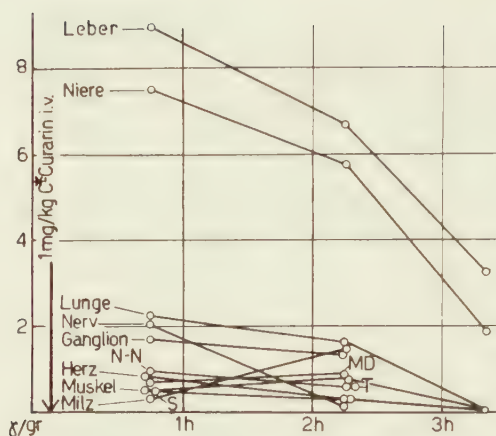


Abb. 29. Verteilung von Radiocurarin in Katzenorganen (Fehlerbreite s. Tab. 8). NN: Nebenniere, S: Schilddrüse, T: Thymus, MD: Magen-darmtrakt.

45 Minuten nach der intravenösen Injektion enthalten vor allem *Leber* und *Niere* des vollständig gelähmten und künstlich beatmeten Tieres viel Curarin (Abb. 29). Die *Lunge* liegt über den anderen Organen mit mittlerem Gehalt. Der quergestreifte Skelettmuskel zeigt eine auffällig niedrige Konzentration, ähnlich der Muskulatur des Magen-Darm-Traktes (MD) und des Herzens. Die Werte der nervösen Organe (N. ischiadicus, Ganglion cervicale cranialis) sind etwas höher, die der endokrinen Drüsen (Thymus, Thyreoiden, Nebennieren)

etwa gleich. Nach  $2\frac{1}{4}$  Stunden sind alle Konzentrationen deutlich niedriger. Vor allem der periphere Nerv scheint seine Aktivität verloren zu haben. Später, nach  $3\frac{1}{2}$  Stunden, sind auch die übrigen Organe, außer Leber und Niere, ohne Aktivität.

Da das leicht wasserlösliche Curarin ziemlich gleichmäßig im gesamten extracellulären Körperwasser verteilt sein sollte, würde man aus diesen Befunden erwarten, daß es in der Leber nicht nur durch den hohen Blutgehalt, sondern auch durch Entgiftungsmechanismen, z. B. Verbrennung, angereichert wird. Auch die *Galle* ist besonders curarinreich (Tab. 8). Ein großer Teil des unveränderten oder abgebauten Alkaloides scheint die Nieren und eventuell die Lunge als Ausscheidungsweg zu passieren.

Am überraschendsten ist die geringe Curarinmenge, die im nervösen Gewebe und in der *Muskulatur* gefunden wurde. Die quergestreiften Muskeln des Beines und Zwerchfells enthalten etwa gleich viel, die Intercostalmuskulatur etwas mehr Alkaloid. *Gehirn* und *Rückenmark* nehmen nur wenig auf; die *Nerven* und besonders die Ganglien enthalten eine etwas größere Menge.

Das Curarinmolekül muß für die paralytische Wirkung vollständig intakt sein. Schon das tertiäre Nor-Curarin, bei dem nur eine Methylgruppe fehlt, hat im Katzenversuch keine Wirkung mehr. Da der Muskel die Fähigkeit Curarin abzubauen kaum besitzt, dürfen wir annehmen, daß seine Radioaktivität dem wirksamen Curarin entspricht. Andernfalls wäre die wirksame lokale Curarinkonzentration noch geringer.

Mit Radiocurarin versuchten wir die Muskelkonzentration zu bestimmen, bei der der Muskel gerade vollständig gelähmt wird. Nach subcutaner Injektion von 0,19 mg/kg trat die Lähmung langsam ein. Im Moment des

Tabelle 8. Verteilung von Radio-C-Curarin in der Katze.

| Versuchsnummer. . . . .      | Intravenös<br>(1) 45 Min. |                   | Intravenös<br>(2) 135 Min. |                   | Intravenös<br>(3) 200 Min. |     | Subcutan<br>(4)      |      | Enteral<br>(5)      |      |
|------------------------------|---------------------------|-------------------|----------------------------|-------------------|----------------------------|-----|----------------------|------|---------------------|------|
|                              | $\gamma/g$                | %                 | $\gamma/g$                 | %                 | $\gamma/g$                 | %   | $\gamma/g$           | %    | $\gamma/g$          | %    |
| Katzengewicht. . . . .       | 3,5 kg                    |                   | 3,0 kg                     |                   | 4,3 kg                     |     | 3,2 kg               |      | 3,7 kg              |      |
| Injizierte Curarinmenge. . . | 1,0 mg (0,29 mg/kg)       |                   | 4,35 mg (1,45 mg/kg)       |                   | 1,0 mg (0,23 mg/kg)        |     | 0,60 mg (0,19 mg/kg) |      | 5,0 mg (1,35 mg/kg) |      |
| Leber. . . . .               | 2,66 ± 0,09               | 30,6              | 9,51 ± 0,21                | 17,5              | 0,77 ± 0,19                | 8,8 | 1,015 ± 0,03         | 12,7 | 2,02 ± 0,16         | 3,09 |
| Niere . . . . .              | 2,14 ± 0,10               | 10,7              | 8,06 ± 0,18                | 2,9               | 0,45 ± 0,08                | 1,0 | 0,41 ± 0,08          | 1,09 | 0,37 ± 0,09         | 0,24 |
| Lunge . . . . .              | 0,61 ± 0,06               | 1,25              | 2,23 ± 0,11                | 0,92              |                            |     |                      |      |                     |      |
| Milz . . . . .               | 0,14 ± 0,08               | 0,12              | 2,08 ± 0,09                | 0,3               | 0,11                       | 0,8 | 0,33 ± 0,08          | 0,03 |                     |      |
| Magendarmtrakt. . . . .      | 0,20 ± 0,03               | 4,1               | 1,22 ± 0,12                | 4,7               |                            |     |                      |      |                     |      |
| N. ischiadicus . . . . .     | 0,59 ± 0,18               |                   | 0,27 ± 0,17                |                   |                            |     |                      |      |                     |      |
| Ganglion cervicale cranialis | 0,49 ± 0,12               |                   | 1,84 ± 0,18                |                   |                            |     |                      |      |                     |      |
| Rückenmark . . . . .         | 0,16 ± 0,07               | 0,16              |                            |                   |                            |     |                      |      |                     |      |
| Gehirn . . . . .             |                           |                   | Spur                       |                   | Spur                       |     |                      |      |                     |      |
| M. gastrocnemius . . . . .   | 0,18 ± 0,03               | 19,0 <sup>1</sup> | 0,41 ± 0,11                | 12,2 <sup>1</sup> | Spur                       |     |                      |      |                     |      |
| Intercostalmuskulatur . . .  | 0,21 ± 0,1                |                   |                            |                   |                            |     |                      |      |                     |      |
| Zwerchfellmuskulatur. . .    | 0,16 ± 0,1                | 0,24              |                            |                   |                            |     |                      |      |                     |      |
| Herzmuskel . . . . .         | 0,26 ± 0,12               | 0,35              | 0,34 ± 0,09                | 0,1               | Spur                       |     |                      |      |                     |      |
| Thyroidea . . . . .          | 0,18 ± 0,03               |                   | 1,1 ± 0,16                 | 0,01              | Spur                       |     |                      |      |                     |      |
| Thymus . . . . .             |                           |                   | 0,84 ± 0,44                | 0,063             |                            |     |                      |      |                     |      |
| Nebennieren . . . . .        | 0,27 ± 0,05               |                   | 0,81 ± 0,15                | 0,007             |                            |     |                      |      |                     |      |
| Kot . . . . .                |                           |                   | Spur                       |                   | Spur                       |     |                      |      |                     |      |
| Galle. . . . .               | 0,95 ± 0,02               | 0,27              | 159,8 ± 1,6                | 11,0              |                            |     | 4,4 ± 0,13           | 1,48 | 5,51 ± 0,13         | 0,33 |
| Magensaft . . . . .          |                           |                   |                            |                   |                            |     |                      |      | 10,0 ± 0,1          | 0,6  |

<sup>1</sup> Gesamte Muskulatur.

% = Prozentualer Organgehalt der zugeführten Alkaloidmenge.

totalen Abfalls der registrierten Kontraktionen wurde ein Gewebestück aus dem *M. gastrocnemius* excidiert. Die darin enthaltene Radiocurarinmenge war so gering ( $0,2 \gamma/\mu\text{g}$ ), daß sie nicht mit Sicherheit bestimmt werden konnte. Die Serumkonzentration betrug im selben Zeitpunkt  $0,25 \gamma/\text{ml}$ . Gleiche Werte wurden beim Beginn der totalen Lähmung nach enteraler Resorption festgestellt. In beiden Versuchen dauerte die vollständige Lähmung etwa eine Stunde, bis die Serumkonzentration unter  $0,20 \gamma/\text{ml}$  abgesunken war.

### c) Ausscheidung

Da die Lähmung bei den meisten Alkaloiden relativ bald (30–60 Min.) vorübergeht, müssen wir annehmen, daß ein rasch einsetzender Ausscheidungs- oder Entgiftungsmechanismus vorhanden ist. Entsprechende Versuche konnten besonders mit Radiocurarin erfolgreich durchgeführt werden. Vollständige Verbrennung im Organismus muß radioaktives  $\text{CO}_2$  in der Ausatemungsluft geben. Blutkonzentration und Ausscheidung des  $^{14}\text{C}$ -Curarin im Urin sind leicht meßbar. Zudem kann im biologischen Test nachgewiesen werden, ob es sich um abgebautes oder unverändertes, voll wirksames Curarin handelt, indem nur das letztere Lähmungswirkung besitzt.

Die Hauptausscheidung erfolgt durch die Nieren. Bei 24 *Fröschen* fanden wir (s. Diss. *Gysling*) während der Curarisierung *Körpergewichtszunahmen*, aus denen auf eine verminderte Ausscheidung geschlossen werden konnte. Die untersuchten drei Alkaloide wurden in wechselnden Dosen in den dorsalen Lymphsack injiziert, und der Frosch in Bauchlage auf einem Teller, der 40 ml stündlich erneuertes Wasser enthielt, gewogen. Die prozentuale Gewichtszunahme in 24 Stunden durch verminderte Harnsekretion und Wasseraufnahme aus der Umgebung war abhängig von der Dosierung und der Art des Alkaloides:

| Alkaloid      | m.p.D.    |            |            |            |
|---------------|-----------|------------|------------|------------|
|               | 5         | 10         | 20         | 50         |
| C-Toxiferin I | $5 \pm 1$ | $6 \pm 1$  | $11 \pm 1$ | $12 \pm 1$ |
| C-Curarin I   | $7 \pm 2$ | $11 \pm 2$ | $17 \pm 3$ | $20 \pm 3$ |
| C-Calebassin  | $2 \pm 1$ | $4 \pm 1$  | $7 \pm 2$  | $8 \pm 2$  |

In 24–60 Stunden kehrt das Gewicht, wahrscheinlich durch eine Polyurie, auf den Ausgangswert zurück. C-Curarin bewirkt die stärkste Wasserretention, die gegenüber Calebassin und Toxiferin doppelt so groß ist. Der Mechanismus dieser Ausscheidungsstörung, die schon von *Morishima* (1899) mit *Boehmschem* «Curarin» bei *Fröschen* beobachtet wurde, ist so nicht feststellbar. *Tubocurarin* bewirkt auch an der isoliert durchströmten *Froschniere* eine Diuresehemmung (*Hotovy* [1949]).

Versuche mit *Radiocurarin* bei *Katzen* haben diese Frage weiter abgeklärt. Abb. 30 zeigt Blut- und Urinkonzentrationen in verschiedenen Zeitpunkten der Curarisierung. Das *Blut* wurde durch Punktion eines in der A. femoralis

eingeschalteten Gummischlauches gewonnen, der Urin durch Katheterisierung der Blase von der Urethra aus. Alle drei Versuche zeigen einen Abfall der Blutkonzentration (ausgezogene Kurven; die Konzentrationen wurden zum besseren Vergleich wieder auf eine theoretische Injektionsmenge von 1 mg/kg umgerechnet), der beim 2. Tier (große Injektionsdosis) deutlich exponentiell ist.

Die Hauptausscheidung geht normalerweise im *Urin* vor sich (gestrichelte Kurve). Sie kommt nur beim 3. Versuch (kleinste Curarindosis) sofort in Gang. Es werden große Mengen im Urin ausgeschieden (in 3 Stunden 25 bis 30%), wobei die ausgeschiedene Curarekonzentration einigermaßen konstant bleibt. Die ersten beiden Versuche zeigen zuerst eine Ausscheidungssperre, die im 2. Versuch erst nach 2 Stunden durchbrochen wird. Mit dem Katheter war anfänglich kein Urin aus der Blase zu entnehmen. Die Nieren hatten im Schnitt blaßgelbe, anämische Rinden und eine blutreiche Rinden-Mark-Grenze. Dies läßt einen vorübergehenden *Shunt* der Nierengefäße dieses Gebietes durch hohe Curarindosen vermuten, den wir in andern Versuchen auch histologisch beweisen konnten (s. später).

Im *Kot* des mittleren Darmtraktes konnten wir nur Spuren von Radioaktivität feststellen. Die Darmwand gibt anscheinend nur wenig Curarin ab. Dafür ist die Galle außerordentlich curarinreich, so daß trotz der kleinen Sekretmenge etwa 10% der Injektionsdosis auf diesem Weg (abgebaut?, gepaart?) eliminiert werden. Die Rückresorption aus dem Darm ist nach unsern Versuchen gering.

Die Ausatemungsluft enthält nur Spuren von radioaktivem  $\text{CO}_2$ . Dieses wurde in 10%iger Natronlauge absorbiert oder nach Trocknung der Ausatemungsluft für eine bestimmte Zeit durch Kühlung mit flüssiger Luft quantitativ ausgefroren und nachher in Bariumcarbonat umgewandelt. Die gesamte ausgeatmete  $\text{C}^{14}\text{O}_2$ -Menge betrug im 3. Versuch von 3 Stunden Dauer auf die verabreichte Curarindosis umgerechnet etwa 0,5%. Die Ausatemungsluft war besonders am Anfang radioaktiv. In den beiden andern Versuchen waren darin nur Spuren Radioaktivität nachweisbar, die innerhalb der statistischen Fehlerbreite der Messungen liegen. Es werden daher höchstens kleine Mengen Curarin im Organismus oxydativ so abgebaut, daß aus der quartären Methylgruppe  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  entsteht.

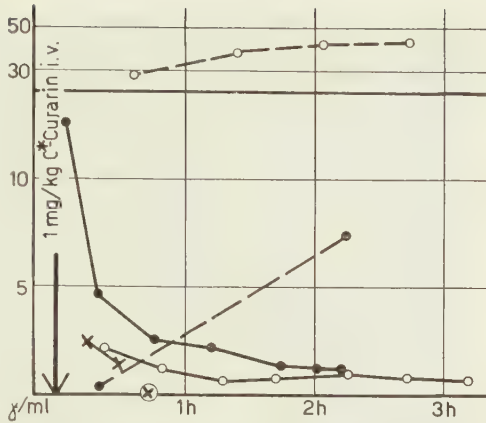


Abb. 30. Ausscheidung von Radiocurarin bei Katzen. ---- Urin, — Blut, Versuch 1: x, Versuch 2: •, Versuch 3: o.

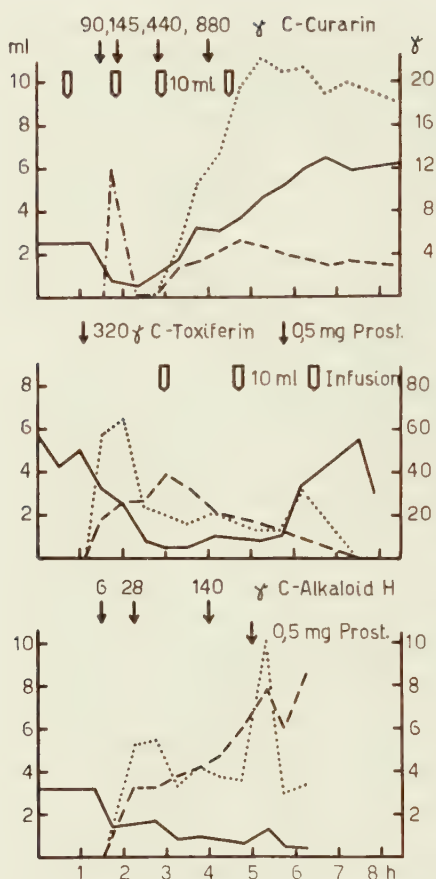


Abb. 31-33. Ausscheidung der Alkaloide im Katzenurin. ↓: i.v. Injektionen, ▽: i.v. Infusionen von 0,9% NaCl-Lösung, — Urinmenge, ..... Alkaloidmenge im Urin, ---- Alkaloidkonzentration im Urin.

Daß in der *Leber* keine größeren Mengen von harnpflichtigen Abbauprodukten aus dem Curarin entstehen und daher der größte Teil unverändert ausgeschieden wird, zeigen auch biologische Curarewirksamkeitsbestimmungen mit dem radio-curarin-haltigen Urin an Mäusen. Auf diese Weise wurde sogar eine etwas höhere Curarinkonzentration als mit der Strahlungsmessung festgestellt. Dies kann durch verschiedene toxische Inhaltsstoffe des Katzenurins bedingt sein, obwohl natürlicher Harn, besonders bei Verdünnung, intravenös (maximal 0,2 ml) keine erkennbare Wirkung auf die Maus hatte. Wenn im Urin  $C^{14}$ -haltige Curarinbruchstücke ausgeschieden würden, hätten wir eine gegenüber der Radioaktivität kleinere biologische Wirksamkeit feststellen müssen. Das Suchen nach anderen Abbauprodukten im biologischen Material (Urin, Galle) soll *papierchromatographisch* fortgesetzt werden.

In weiteren 10 Katzenversuchen wurde die Ausscheidung verschiedener anderer Calebassenalkaloide mit Hilfe des *biologischen* Curaretestes bei Mäusen verfolgt. Es können auf diese Weise nur stark wirksame Verbindungen untersucht werden, da die Aktivitätsbestimmung nicht mit

größeren Injektionsdosen als 0,1–0,2 ml unverdünntem Urin durchführbar ist.

Bei  $C^1$ -Curarin trat anfänglich wieder eine Ausscheidungssperre während etwa einer Stunde ein (Abb. 31). Urinausscheidung und Curarinkonzentration im Harn waren während dieser Zeit deutlich vermindert. Die Exkretion kam später mit Hilfe von Infusionen (10 ml 0,9% NaCl-Lösung) wieder in Gang, und die ausgeschiedene Curarinmenge erreichte nach 3 Stunden ein Maximum, um nachher langsam abzufallen. Makroskopisch war im Nierenschnitt das Bild eines partiellen Shunts festzustellen. 2½ Stunden nach Injektion von 300 γ/kg Curarin waren die Glomerulusschlingen *histologisch* et-

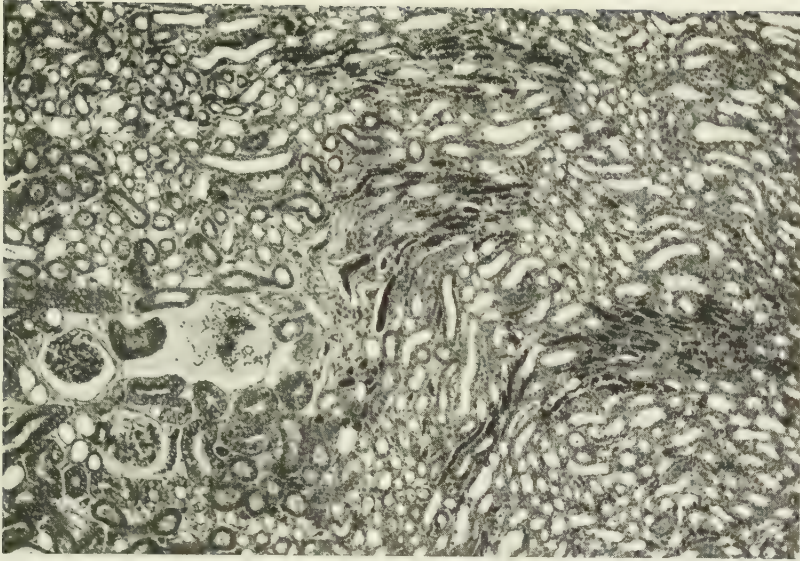


Abb. 34. Rindenmarkgrenze einer Katzeniere nach C-Curarin I i.v. Blutüberfüllter neben leerem Glomerulus, Blutseen in der Markzone bei partiellem Shunt.

was verdickt und wechselnd mit Blut gefüllt. Neben Glomeruli mit Stase war die Rinde blutarm, demgegenüber das Mark, mit stellenweise stark erweiterten Kapillaren, blutreich (vgl. Abb. 34). Der Kapselraum und einige Tubuli enthielten ein fällbares Filtrat mit vereinzelt Erythrocyten. Die Hauptstückepithelien waren etwas weniger verfettet, als dies bei normalen Katzen der Fall ist<sup>1</sup> und einige Kerne zeigten Pyknose. Auch histologisch entspricht das Bild einem *partiellen Shunt*.

7 Stunden nach Injektion steigender Mengen Curarin (Abb. 34, Gesamtmenge 360  $\gamma$ /kg) hatte sich dieses Bild etwas verändert: Die Glomeruluschlingen waren besser mit Blut gefüllt, obwohl die wechselnde Verteilung im Mark immer noch überwog. In den trüb geschwollenen Hauptstückepithelien war vermehrt Fett eingelagert, die Kuppensekretion schien vermindert, und die Kerne waren stellenweise pyknotisch. Die Sammelrohre enthielten vereinzelte granulierte Zylinder mit abgeschieferten Epithelzellen. Im gesamten bildete sich der *Shunt zurück*, während die degenerativen Vorgänge in den Tubulusepithelien eher zugenommen hatten.

Bei 2 *Kaninchen* wurde die Bauchhöhle geöffnet und die Nieren mit den zugehörigen großen Gefäßen während der Curareinjektion beobachtet. Da die durch Atmungslähmung bedingte Anoxämie ein Ablassen der Nieren-

<sup>1</sup> Im Gegensatz zu Kaninchen haben die proximalen  $\frac{2}{3}$ – $\frac{3}{4}$  des Hauptstückes bei Katzenieren schon physiologischerweise sehr viel Fett, vorwiegend basal, in den Epithelzellen eingelagert.

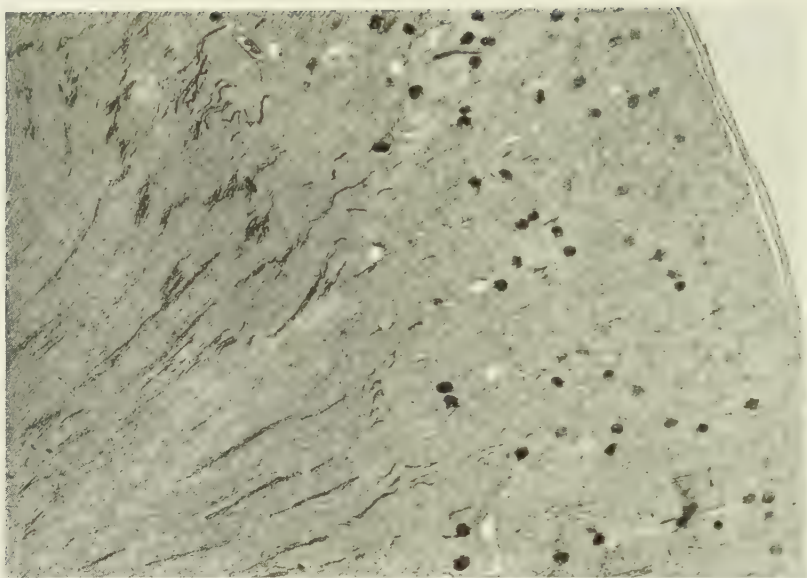


Abb. 35. Kaninchenniere mit partiellem Shunt (Tuscheinjektion) nach C-Curarin I.

rinde bewirkt, wurde durch eine Trachealkanüle künstlich beatmet. Nach 200  $\gamma$ /kg i.v. wurde die Rindenoberfläche leicht fleckig und blaß. Die A. renalis war nur noch als dünner Strang erkennbar, und in der V. renalis traten während längerer Zeit hellrote, pulsierende Streifen von kurzgeschlossenem Arterienblut auf. Die Urinsekretion nahm während dieser Zeit auf  $\frac{1}{4}$  ab. Nach einer Stunde war das Bild wieder normal. 400  $\gamma$ /kg bewirkten erneut Ablassen der Nierenrinde und Arterienblutbeimengung in der Vene. 200  $\gamma$ /kg *Adrenalin* hatten eine viel stärkere Wirkung: Die Niere wurde anämisch gelb, die Nierenarterie war kontrahiert, und die Vene füllte sich mit hellrotem Blut. Der Nierenschnitt entsprach wieder einem partiellen (Curarin) bis totalen (Adrenalin) Shunt der Gefäße in der Rinden-Mark-Grenze. *Mikroskopisch* waren 20 Minuten nach einer Dosis von 200  $\gamma$ /kg Curarin Glomeruli und Markkapillaren unregelmäßig mit Blut gefüllt, was besonders nach Tuscheinjektion deutlich wurde (Abb. 35). Vereinzelte Glomeruli der äußeren Rindenschicht blieben ungefärbt, während andere zonenweise sehr viel Farbstoff aufnahmen. Da die Blutfüllung der Schlingenkapillaren nirgends fehlte und ihre Unregelmäßigkeit vielleicht durch Rückstauung oder Stase bedingt war, kann histologisch *nicht* von einem *typischen Shuntbild* gesprochen werden. Die Hauptstückepithelien zeigten verschiedene Funktionszustände mit streckenweisen Nekrosen, Kernpyknosen, Granulationen des Cytoplasmas. In den oft erweiterten Tubuluslumina waren vereinzelte hyaline Zylinder und Erythrocyten eingelagert.

Auch *Toxiferin* bewirkt eine vorübergehende Verminderung der Urin-

produktion (Abb. 32). Die Alkaloidausscheidung war trotzdem regelmäßig und rasch. In 6 Stunden wurden 290  $\gamma$  der injizierten 320  $\gamma$  ausgeschieden. In gleichen Zeiten wird durch die Clearance ein bestimmter Anteil der Gesamtmenge eliminiert, wodurch ein exponentieller Abfall der Alkaloidmenge im Urin bedingt ist. Ein Shunt scheint sich nicht einzustellen. Prostigmin beschleunigt die Ausscheidung durch vermehrte Harnbildung. Die Urinkonzentration nimmt dadurch etwas ab. Auch *histologisch* ist die Blutfüllung der Glomeruli 4½ Stunden nach Dosen von 250–300  $\gamma$ /kg regelmäßig; die Schlingen sind zart und die Kapselräume bleiben leer. Die Kapillarnetze der Markregion werden normal durchblutet, in einem Fall durch Stase etwas stärker gefüllt. Die Tubulusepithelien sind in gutem Zustand mit mittelstarker Fetteinlagerung, ausgedehnter Kuppensekretion, teilweise etwas trüb. Normaler Funktionszustand der Nieren *ohne Shunt*.

Die *C-Alkaloide E und G* werden ohne Unterbruch sofort ausgeschieden. Die Urinmenge bleibt ziemlich konstant. Innerhalb einiger Stunden ist der größte Teil der injizierten Dosis eliminiert. Durch Prostigmin wird dies beschleunigt. Die Alkaloidkonzentration im Urin bleibt 2–3  $\gamma$ /ml. *Mikroskopisch* ist die Durchblutung der gesamten Rinde 3 Stunden nach steigenden Dosen von insgesamt 140  $\gamma$ /kg Alkaloid G gleichmäßig gut. Einzelne Glomerulusschlingen sind wenig verdickt und durch Hämostase, wahrscheinlich von den V. stellatae aus, erweitert. Auch das Mark ist unregelmäßig durchblutet. In den Kapselräumen befinden sich vereinzelt fällbare Eiweißmassen und abgestoßene Epithelzellen. Die Hauptstücke sind teilweise nekrotisch und die Schleifenstücke größtenteils durch späte Fixation autolytisch verändert. *Kein Shunt* nachweisbar, vermehrte Blutfüllung durch Stauung.

Bei *C-Alkaloid H* setzt die Ausscheidung rasch ein und verläuft exponentiell leicht abfallend (Abb. 33). Die Urinmenge nimmt langsam ab, was durch eine steigende Alkaloidkonzentration kompensiert wird. Durch Prostigmin wird die pro Zeiteinheit ausgeschiedene Urinmenge verdoppelt, die Konzentration erhöht und als Resultat die Gesamtausscheidung auf das 3fache gesteigert. 4–5 Stunden nach 66 oder 80  $\gamma$ /kg Alkaloid H waren auch *histologisch keine sicheren Shuntmerkmale* feststellbar. Die Rindenzone wurde ziemlich regelmäßig, die Markgegend stellenweise etwas ausgedehnter, die Rinden-Mark-Grenze nicht verstärkt durchblutet. Die Tubulusepithelien der Hauptstücke waren vereinzelt albuminoid degeneriert, teils stark verfettet, oft mit pyknotischen Kernen. Im Lumen der Schleifenstücke befanden sich einzelne abgelöste Zellen.

Mit *C-Dihydrotoxiiferin (K)* sahen wir bei einer Katze nach Injektion steigender Dosen einen *typischen Shunt* mit rapider Abnahme der sezernierten Urinmenge und nur geringer Alkaloidausscheidung. Die Nieren zeigten makroskopisch das dazu gehörige Bild. Auch Prostigmin konnte die Ausscheidungssperre nicht durchbrechen. Die Histologie der Nieren 3 Stunden nach insgesamt 300  $\gamma$ /kg Alkaloid K zeigte einen *partiellen Shunt* mit minimaler Durchblutung zahlreicher Glomeruli. Die Schlingenkapillaren waren

meist starr und verdickt. In den Kapselräumen fanden wir färbbare Massen, in den Lumina der tubulären Nephronteile Zylinder mit abgestorbenen Zellen, die aus stark verfetteten und verquollenen Hauptstückepithelien stammten. Die Blutfüllung war in der Markzone auffallend.

Es muß berücksichtigt werden, daß bei einigen dieser Versuche gleichzeitig der periphere Teil des durchtrennten N. ischiadicus zur Registrierung der paralytischen Wirkung gereizt wurde. Anfänglich unterbanden wir auch den zentralen Ischiadicusstumpf, um Blutungen aus den Begleitgefäßen zu vermeiden. Da ein solcher Reiz über sympathische Fasern im Ischiadicus zu einem Shunt führen kann, wurde dies später unterlassen. In Kontrollversuchen mit und ohne Nervenreizung hatte besonders C-Curarin die gleiche Wirkung auf die Ausscheidung, die nach *Trueta* (1947) als partieller, kurz-dauernder Shunt bezeichnet werden muß. Die Urinmenge nimmt natürlich bei allen Versuchen mit der Zeit infolge der operativen Eingriffe langsam ab. Dies kann aber gut vom früh einsetzenden und vorübergehenden Shunt (Abb. 31) unterschieden werden.

Der Ursprung der Nierenischämie ist unbekannt. Er kann neurogen oder humoral sein, und besonders in unseren Versuchen wäre man geneigt, an Histamin (oder H-Substanzen) als Teilursache zu denken (*Corelli* [1950]).

## E. Untersuchungen an Organpräparaten

Um dem Verständnis der Wirkungsweise der Calebassenalkaloide näher zu kommen, haben wir auch einige Untersuchungen an isolierten Muskelpräparaten durchgeführt. Es interessierten uns vor allem Chronaxie und Rheobasenwerte des Nerv-Muskel-Präparates, die Haftung der Alkaloide am Zwerchfellmuskel und die Art des neuromuskulären Blocks an den Endplatten.

Von *Paton* und *Perry* (1951) sind mit Toxiferin zudem Versuche am isolierten Kaninchenileum durchgeführt worden. Diese ergaben, daß auch der Plexus myentericus gleich wie andere parasympathische Schaltstellen gelähmt wird, wodurch vor allem die Kontraktionen der Ringmuskulatur des Darmes betroffen werden. Die atropinartige Wirkung von Toxiferin gegenüber den Acetylcholincontraktionen eines Meerschweinchendarmes ist aber sehr gering ( $1/5000$  des Atropins), ebenso die Muscarinwirkung bei der Katze ( $1/1000$  des Acetylcholins).

### *1. Quantitative Erfassung der bei Fröschen durch Toxiferin, Curarin und Calebassin bewirkten elektro-physiologischen Veränderungen (Gysling [1952])*

An curare-gelähmten Fröschen (intralymphale Injektion) wurde der N. ischiadicus freigelegt und mit einer bipolaren chlorierten Silberelektrode gereizt. Für die *Rheobasenbestimmung* verwendeten wir Stromstöße durch Entladung von Kondensatoren, die eine variable Intensität und eine konstante Dauer von 0,01 Sekunde (etwa das

50fache der *Chronaxie*) hatten. An der resultierenden Schließungszuckung konnte die im Verlauf der Curarisierung wechselnde Rheobase verfolgt werden. Zwischen den Messungen wurde der Nerv mit Ringer-Lösung befeuchtet und in die Muskellogen zurückgelegt. Die geringste Traumatisierung veränderte die Rheobasenwerte, wogegen Abkühlung des Nerven auf 5–8° wirkungslos blieb.

Das Verschwinden der indirekten elektrischen Erregbarkeit ist nicht mit der Areflexie identisch, die erst bei der 4,2fachen m.p.D. einsetzt (s. früher). Diese folgt dem Erlöschen der Willkürbewegungen (*Vulpian*, vgl. *L.* und

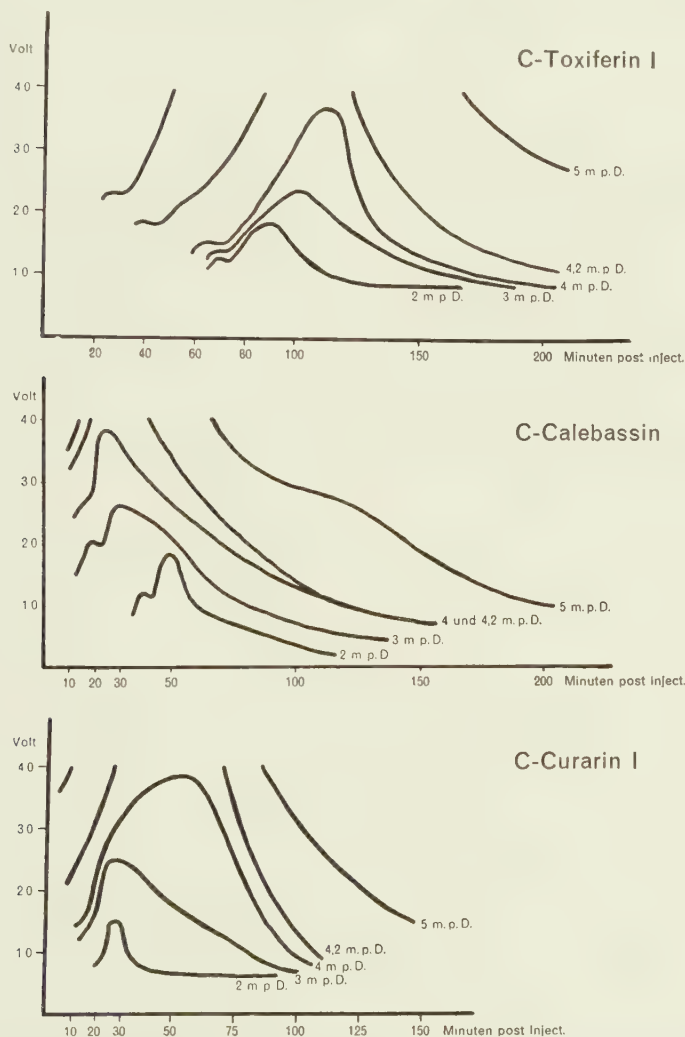


Abb. 36. Rheobasenkurven des Froschischadicus. Ordinate: angelegte Spannung, Abszisse: Zeit nach intralymphaler Injektion, m.p.D. = minimal paralytische Dosis.

*M. Lapique* [1947]). Die einzelnen Messungen wurden in Zeitabständen von minimal 2 Minuten durchgeführt, um durch «Ermüdung» verminderte Zuckungen bei häufiger Reizung zu vermeiden. Auch hier war das bereits früher beschriebene Phänomen nachweisbar, daß sich nach Aufhören der indirekten Erregbarkeit auf kurz hintereinander folgende, tetanische Stromstöße im Wiederauftreten von Muskelzuckungen zeigt. Die Kontraktionen nehmen jedoch rasch ab und werden von einer Refraktärperiode gefolgt. Das Wiedererscheinen der indirekten Erregbarkeit ist daher nur durch die Zuckung auf eine einzige Kondensatorentladung und die nachher andauernde Erregbarkeit eindeutig nachweisbar.

Die *Rheobase* steigt für C-Toxiferin I und Calebassin innerhalb der 2-4fachen m.p.D. zu Beginn der Curarisierung zuerst an, um dann plötzlich für kürzere Zeit wieder kleiner zu werden (Abb. 36). Später dauert der Anstieg ungehindert bis zum Maximum. Gleichzeitig mit dem vorübergehenden Abfall der Rheobase tritt ein deutlicher Tonusverlust der Muskulatur ein. Ohne den antagonistischen Tonus genügt anscheinend ein geringer motorischer Impuls, um eine Zuckung auszulösen. Dieser Tonusverlust kann zentral oder peripher bedingt sein. Er geht der eigentlichen Lähmung der Willkürbewegungen voraus (*Bremer*, vgl. *L.* und *M. Lapique* [1947]). Die peripheren Tonsuelemente scheinen, wie wir sehen werden, für diese Alkaloide empfindlicher zu sein als die motorischen Endplatten. Oberhalb der 5fachen m.p.D. wird der Rheobasenabfall nur gering abgeflacht. Bei C-Curarin I fehlt er vollständig. Für dieses Alkaloid wäre nach dieser Auffassung keine oder eine spätere, gleichzeitig mit der totalen Paralyse eintretende Einwirkung auf den Muskeltonus zu erwarten.

Die *Chronaxie* als Nutzzeit bei verdoppelter Rheobase des gleichen Nerv-Muskel-Präparates *in vivo* wurde ebenfalls durch Entladung von Kondensatoren mit variabler Kapazität bestimmt. Es muß betont werden, daß die Messung mit der gleichen Elektrode wie die Rheobase am N. ischiadicus erfolgte und nicht separat für den Muskel vorgenommen wurde. Die Lokalisation einer eventuellen Änderung der Erregbarkeit ist daher auf diese Weise nicht mit Sicherheit möglich, auch wenn mit *Lapique* angenommen wurde, daß *Curare* die *Chronaxie* des Nerven nicht verändert und nur die des Muskels vergrößert. Interessanterweise fanden wir bei allen drei Alkaloiden in jedem Stadium der Curarisierung eine *konstante Chronaxie*. Ihre Größe betrug durchschnittlich  $0,15 \sigma$  mit einer Streuung von  $\pm 15\%$  pro Tier (verschiedene Tiere zeigten Werte, die um  $0,15 \pm 0,5 \sigma$  schwankten). Auch die Reizzeitspannungskurven bleiben in der Form gleich und unterscheiden sich nur durch erhöhte Spannungen, indem die ursprüngliche Zeitachse parallel verschoben wird. Ein «*Isochronismus*» zwischen Nerv und Muskel sollte allerdings durch direkte lokalisatorische Messungen der Muskeleerregbarkeit selbst bewiesen werden. Es wurde schon früher festgestellt, daß Chronaxieveränderungen erst bei hohen Dosen eintreten und zum Verschwinden der indirekten Erregbarkeit kein Heterochronismus notwendig ist, während um-

gekehrt bei Bestehen eines solchen keine Paralyse vorhanden sein muß (vgl. R. Böhm [1920]).

Gysling hat versucht, aus den Rheobasenwerten und der Lähmungsdauer ein Kriterium für die *Lähmungsintensität* zu finden. Die *Rheobasenkurven* zeigen, daß der Anstieg dieser Größe und damit die Lähmung bei Toxiferin viel langsamer als bei Calebassin und C-Curarin erfolgt. Dies entspricht vielleicht auch einer größeren therapeutischen Breite. Auch ist die maximale Rheo-

base für eine bestimmte Dosis bedeutend höher und die Curarisierungsdauer, wie schon erwähnt, bei Toxiferin viel größer als für die beiden andern Alkaloide. Der «Curarisierungsindex» (= maximale Rheobasenhöhe  $\times$  Dauer der Curarisierung) als Funktion der Dosis läßt daher die verschiedenen Alkaloide in bezug auf ihre Lähmungsstärke vergleichen (Abb. 37). C-Toxiferin I zeigte auch in dieser Darstellung die stärkste Lähmungswirkung, wobei die Indexkurve anfangs etwas langsamer als die der andern Alkaloide ansteigt. C-Curarin verläuft steiler und im Mittelteil nahe bei Toxiferin, um dann von 3 m.p.D. flacher zu werden. Calebassin lähmt bei verhältnismäßig gleichen Lähmungsdosen etwa ein Viertel bis ein Fünftel so intensiv wie Toxiferin.

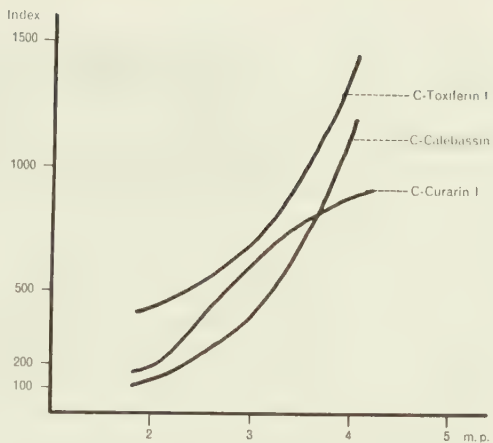


Abb. 37. Curarisierungsindex bei verschiedener Dosierung nach Gysling. Ordinate: Index (maximale Rheobasenhöhe  $\times$  Dauer der Curarisierung), Abszisse: minimal paralytische Dosen intralymphal.

## 2. Fixation der Alkaloide im Muskel

Das Zwerchfellpräparat von Bülbring (1946) eignet sich zur Feststellung der Curarewirkung auf die quergestreifte Muskulatur.

Ein fächerförmiges Stück Meerschweinchendiaphragma mit Rippenbogen wird in Tyrodelösung aufgespannt und der dazugehörige N. phrenicus durch eine darüberhängende bipolare Platinelektrode gezogen. Der sehnige Zwerchfellzipfel ist mit einem isotonischen Muskelhebel zur Registrierung der Kontraktionen auf einer Rußkurve verbunden. Die indirekte Muskelreizung (über den Nerven) erfolgt mit 2-Volt-Stößen alle 7,5 Sekunden. Das Tyrodebad (100 ml) wird mit einem Thermostaten auf 22° gehalten und ist sauerstoff-durchströmt. Auf diese Weise tauschen die Stoffwechselprodukte der dünnen Muskelplatte rasch aus.

Ein Zwerchfellpräparat ist stundenlang haltbar. Die Kontraktionshöhe nimmt in 12 Stunden um etwa 30%, in 20 Stunden um 50% ab. Unsere Versuche dauerten durchschnittlich 6 Stunden. In dieser Zeit treten histologisch

allerdings deutliche Veränderungen an den Muskelfasern ein (Entmischung im Sarkoplasma, Vakuolisierung, Quellung usw., *Fischer, Huber, Langemann* [1951]), was für die Auswertung berücksichtigt werden muß.

Sobald der Badflüssigkeit Curarelösung zugesetzt wird, nimmt die Kontraktionshöhe ab. Der Abfall erfolgt zuerst etwas unregelmäßig, nachher meist exponentiell. Mit einer bestimmten Grenzkonzentration wird der Muskel gerade vollständig gelähmt, d. h. der exponentielle Abfall der Kontraktionshöhe erreicht nach längerer Zeit (40–60 Min.) die Basislinie. Bei größeren Dosen ist der Abfall rascher; bei kleineren Dosen nicht vollständig, sondern nur bis auf einen konstanten Anteil (in %) der ursprünglichen Höhe. Die Curarewirkung kann nun durch *Prostigmin* antagonisiert werden, und die Kontraktionen erreichen rasch wieder das ursprüngliche Ausmaß. Die gleiche Wirkung wird durch *einmaliges Auswaschen* (Absaugen der curarehaltigen Badflüssigkeit und Zusetzen von 100 ml frischer Tyrodelösung) erreicht, wenn die zugesetzte Curaremenge nicht zu groß war. Die Fixation des Alkaloides am Muskel scheint daher nicht besonders fest zu sein. Es interessierte uns nun vor allem, ob durch *Kumulation* eine solche Haftwirkung deutlich verstärkt wird.

Zuerst wird die minimale Alkaloidmenge bestimmt, die das Zwerchfell gerade vollständig lähmt (7,5  $\gamma$  Toxiferin, 50  $\gamma$  Curarin, 70  $\gamma$  Calabassin in 100 ml Tyrodelösung).

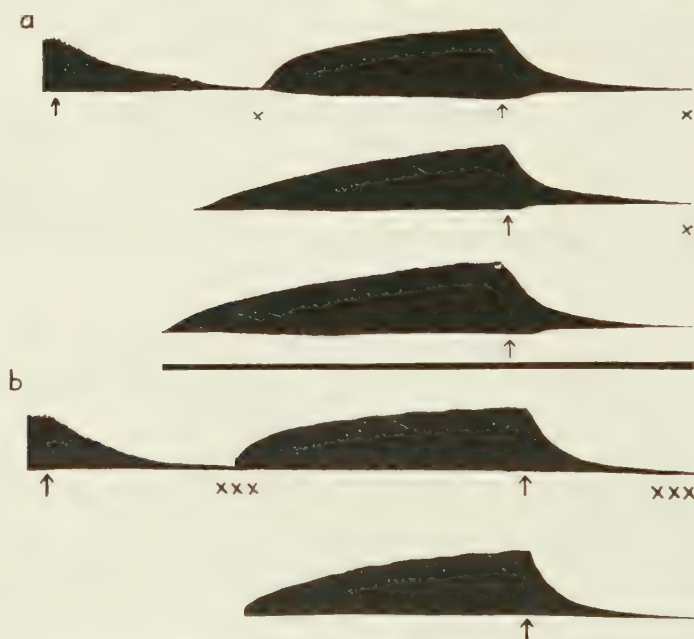


Abb. 38. Kumulationsversuche am isolierten Meerschweinchenzwerchfell. Elektrische Phrenicusreizung alle 7,5 Sek. a) ↑: 50  $\gamma$  C-Curarin I/100 ml Badflüssigkeit, x: 1mal Auswaschen; b) ↑: 50  $\gamma$  C-Curarin I 100 ml Badflüssigkeit, xxx: 3mal Auswaschen.



Abb. 39. ↑: 5 γ C-Toxiferin I/100 ml Badflüssigkeit, x: 1mal Auswaschen.

Die Zeit (Minuten), in der die Kontraktion auf die Hälfte absinkt, ist ein Maß für die Geschwindigkeit des Lähmungseintrittes. Nach einmaligem Auswaschen erholt sich das Zwerchfell vollständig (Abb. 38a). Sobald die Zuckungshöhe wieder konstant ist, wird die gleiche minimale Alkaloidmenge erneut zugesetzt. Der Abfall der Kurve erfolgt nun rascher, als ob eine etwas größere Curaremenge im Verhältnis zum ersten Mal beigesetzt worden wäre (Tab. 8). Dies läßt sich mehrere Male wiederholen, wobei die Kurve immer steiler abfällt. Nach etwa 4–5 Lähmungen wird die Kurvenform konstant, d. h. die Kontraktionen nehmen bei erneutem Zusatz von Alkaloid gleich schnell ab.

Wird die Konzentration erhöht, so beschleunigt sich der Abfall, und die Halbwertszeiten sind verkürzt (Tab. 8). Ist die Alkaloidmenge in der Badflüssigkeit vermindert, wird das Zwerchfell nicht vollständig gelähmt (Abb. 39). Erst nach mehrmaligem Auswaschen und wieder Zusetzen der gleichen Dosis tritt die vollständige Lähmung durch Kumulation ein.

Obgleich der ausgewaschene Muskel seine ursprüngliche Kontraktionshöhe wieder erreicht, bleibt eine kleine Alkaloidmenge haften und führt durch Kumulation zu rascherer und stärkerer Lähmung. Für eine bestimmte

Tabelle 8

Minuten bis zur halben Zwerchfelllähmung durch Kumulation verschiedener Curarealkaloide.

| Alkaloid           | Bad-<br>konzentration | Lähmung |      |          |      |        |
|--------------------|-----------------------|---------|------|----------|------|--------|
|                    |                       | 1.      | 2.   | 3.       | 4.   | 5.     |
| a) 1mal Auswaschen |                       |         |      |          |      |        |
| Toxiferin          | 7,5 γ/100 ml          | 23      | 13,5 | 11,5     | 11,0 | 11,0   |
| Curarin            | 50 γ/100 ml           | 24      | 10   | 8        | 8    |        |
|                    | 70 γ/100 ml           | 15      | 5    | 4,8      | 4,8  |        |
| Calebassin         | 70 γ/100 ml           | 20      | 12   | 10       | 8    | 8      |
|                    | 90 γ/100 ml           | 13      | 11   | 9        | 8    | 8      |
| C-Alkaloid E       | 4 γ/100 ml            | 35      | 14   | 12       | 10   |        |
|                    | 6 γ/100 ml            | 22      | 8    | 9        |      |        |
| Tubocurarin        | 100 γ/100 ml          | 22      | 10   | 10       | 9    | 11( ?) |
| b) 3mal Auswaschen |                       |         |      |          |      |        |
| Toxiferin          | 7,5 γ/100 ml          | 21      | 12   | 12,5( ?) |      |        |
|                    | 5 γ/100 ml            | 44      | 20   | 18,5     |      |        |
| Curarin            | 50 γ/100 ml           | 18      | 14   | 12       |      |        |
|                    | 70 γ/100 ml           | 16      | 8,5  | 7,5      |      |        |

Badkonzentration ist diese nach einigen Wiederholungen nicht mehr zu verstärken, indem die Halbwertszeiten einen minimalen Endwert haben. Der erste Lähmungsabfall hat anfänglich eine leicht bucklige Form und wird erst später exponentiell. Bei der Anlähmung werden anscheinend zuerst einige (tonische !) Fasern mit Curare besetzt, das später auch durch mehrmaliges Spülen nicht mehr entfernt werden kann.

Nach einigen Lähmungen (bei Toxiferin 3, Curarin 3, Calebassin 4, Tubocurarin 2) sind diese Fasern so weit gesättigt, daß auch bei Wiederholung für eine entsprechende Badkonzentration kein rascherer Abfall mehr eintritt. Erhöhte Dosis vermindert die Zahl der notwendigen Lähmungen (Curarin 2, Calebassin 3). Da die Kontraktionshöhe nicht abnimmt, muß die Sättigungsmenge kleiner als die minimale Lähmungsdosis sein. Um diese zu berechnen, haben wir die Alkaloidmenge bestimmt, die das Zwerchfell bei *Passageversuchen* aus der Badflüssigkeit aufnimmt (Abb. 40):

Zur Badflüssigkeit eines Zwerchfellpräparates wird die minimale Alkaloidmenge, die vollständig lähmt, gegeben. Nach der Lähmung wird diese erste Badflüssigkeit abgesaugt und aufbewahrt. Nachdem sich das Zwerchfell in frischer Tyrodelösung erholt hat, wird zum zweiten Mal mit der gleichen Dosis gelähmt. Auch die zweite Badflüssigkeit wird aufbewahrt. Zur Kontrolle wird nach Erholung nochmals dieselbe Dosis zugesetzt, die das Zwerchfell zum dritten Mal vollständig lähmt.

Zu einem zweiten, frischen Zwerchfellpräparat wird nun, nachdem die Kontraktionshöhe konstant geworden ist, die erste Badflüssigkeit zugesetzt. Die Lähmung tritt wegen der darin verminderten Curarekonzentration etwas später ein. Dann wird diese erste Lösung wieder abgesaugt und für ein drittes Zwerchfellpräparat zurückbehalten. Der erholte Muskel wird mit der zweiten Badflüssigkeit erneut gelähmt, diese wieder abgesaugt, und am Schluß zur Kontrolle dem frischen Bad nochmals die gesamte Lähmungsdosis beigegeben. Dieses Vorgehen setzten wir durch einige weitere Passagen fort, wobei die Lösungen in der Zwischenzeit bei 4° C aufbewahrt wurden.

Es zeigt sich, daß die Alkaloidkonzentration der 1. und 2. Badflüssigkeit langsam absinkt, indem die Lähmung verzögert eintritt und am Schluß nicht mehr vollständig ist. Der Vergleich mit der anschließenden 3. Lähmung durch die ursprüngliche Lähmungsdosis macht dies ebenfalls deutlich, obwohl hier zusätzlich Kumulation eintritt.

Das Bild z. B. der 4. Passage entspricht in der Lähmungsform einer klei-

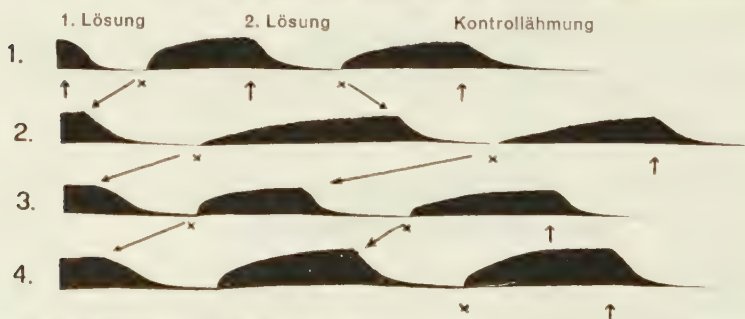


Abb. 40. Passageversuche am isolierten Meerschweinchenzwerchfell. ↑: 5  $\gamma$  C-Toxiferin I/100 ml Badflüssigkeit, x: Auswaschen und Passage →.

nern Alkaloidmenge, als anfänglich zugesetzt wurde. Die Mengendifferenz wurde von den 3 vorangehenden Zwerchfellen durch Fixation aufgebraucht. Für Curarin und Toxiferin betrug die Abnahme der Zuckungen nach 4 Passagen nur noch 80 bzw. 90% an Stelle von 100%. Für den gleichen Effekt braucht es etwa 10  $\gamma$  Curarin oder 1  $\gamma$  Toxiferin weniger als die verwendete Lähmungsdosis, so daß jedes Zwerchfell etwa 7 bzw. 5% fixiert hat.

Mit Calebassin ist die Konzentrationsabnahme in der Badflüssigkeit so gering, daß höchstens 2-3% der Alkaloidmenge von einem Zwerchfell aufgebraucht werden.

Wir setzen nun voraus, daß der Muskel immer denselben Anteil (Toxiferin 5%, Curarin 7%, Calebassin 3%) aus der Badflüssigkeit aufnimmt. Würde die aufgenommene Alkaloidmenge wieder vollständig an die erneuerte Badflüssigkeit abgegeben, so wäre nach dreimaligem Spülen weniger als 1/100 der ursprünglichen Dosis im Muskel enthalten. Dies genügt wohl kaum, um die deutliche Veränderung der Lähmungskurve nach erneutem Alkaloidzusatz zu erklären (Abb. 38 b). Wenn anderseits der gesamte Anteil nicht mehr abgegeben wird, müßte die Lähmung weiterbestehen. Da die Kontraktionshöhe auch bei mehrmaliger Kumulation nicht verkleinert wird, können wir annehmen, daß ein viel kleinerer Teil im Muskel fixiert bleibt und der Rest leicht auswaschbar ist. Die minimale Lähmungsdosis ist die obere Grenze dafür.

Tabelle 9

| Minimale<br>Lähmungsdosis<br>für 100 ml Bad | Aufnahme<br>durch<br>Zwerchfell | Kumulative<br>Lähmungen | Quotient =<br>Sättigungsdosis<br>für 1 Lähmung | % der<br>Lähmungsdosis<br>für 100 ml Bad |
|---------------------------------------------|---------------------------------|-------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------|
| Toxiferin 2 $\gamma$                        | 5% = 0,1 $\gamma$               | 3                       | 0,033 $\gamma$                                 | 0,45%                                    |
| Curarin 15 $\gamma$                         | 7% = 1,05 $\gamma$              | 3                       | 0,35 $\gamma$                                  | 0,70%                                    |
| Calebassin 20 $\gamma$                      | 3% = 0,6 $\gamma$               | 4                       | 0,15 $\gamma$                                  | 0,21%                                    |

Der Quotient aus der minimalen Lähmungsdosis und der Anzahl Lähmungen bis zur Sättigung gibt die *maximale* Alkaloidmenge, die pro Lähmung am Muskel fixiert bleibt. Man kann daher annehmen, daß nur sehr wenig am Zwerchfell haftet.

Wenn die dem Bad zugesetzte Menge erhöht wird, ist die Sättigung schneller erreicht. Von 70  $\gamma$  Curarin werden pro Lähmung 0,7% = 0,49  $\gamma$  im Zwerchfell fixiert, so daß schon nach zwei Lähmungen die minimale Lähmungsdosis (1,05  $\gamma$ ) beinahe erreicht ist. Von 90  $\gamma$  Calebassin braucht es 3mal 0,19  $\gamma$  (0,21% für 1 Lähmung) = 0,57  $\gamma$ , um der minimalen Lähmungsdosis nahezukommen. Dementsprechend wird der Lähmungsabfall des Zwerchfells bei diesen Alkaloiddosen schon nach 2 bzw. 3mal Zusetzen praktisch konstant (Tab. 8).

Die angegebenen Zahlenwerte sind natürlich keineswegs sehr genau (wenig Versuche, keine Statistik) und sollen nur zu approximativen Überlegungen dienen.

Zusammenfassend ergeben diese Versuche, daß überraschend wenig Calebassenalkaloid im Muskel zurückbleibt, wenn dieser auch nur einmal ausgewaschen wird. Bei wiederholten Lähmungen ist die sukzessive Fixation einer kleinen Menge in einem bestimmten Muskelbezirk möglich, ohne daß die Zuckungshöhe vermindert, d. h. ohne daß eine eigentliche Lähmung erkennbar ist. Nur die Form des Kurvenabfalls wird verändert.

### 3. Wirkungsmechanismus der Calebassenalkaloide

Wir haben schon früher festgestellt, daß alle untersuchten Alkaloide durch Prostigmin antagonisiert werden. Auch kann durch kurze Faradisierung, d. h. tetanische Reizung des motorischen Nerven, die Lähmung rückgängig gemacht werden, so daß der Muskel auf Einzelreize für kurze Zeit wieder anspricht. In dieser Hinsicht gleichen unsere Alkaloide dem d-Tubocurarin. Der Block liegt an der Endplatte, da auf einen Nervenimpuls hin am curarisierten Muskel typische Endplattenpotentiale feststellbar sind, die bei einem Unterbruch in der nervösen Zuleitung nicht auftreten oder bei normaler Muskeleerregung vom Aktionspotential der Muskelfasern überdeckt würden. Der curarisierte Muskel selbst bleibt aber immer direkt erregbar (W. Feldberg [1951]).

d-Tubocurarin vermindert die depolarisierende Wirkung des Acetylcholins, so daß die freigesetzten Mengen zu der die Muskelkontraktion auslösenden Veränderung der Endplatte nicht mehr genügen. Dies erklärt auch teilweise, warum cholinesterasehemmende Stoffe für diese Curarelähmung so wirksame Antidote sind.

Decamethonium lähmt auf andere Weise: Der neuromuskuläre Block entsteht durch eine anhaltende Depolarisierung der Endplatte. Prostigmin, das die AcetylcholinKonzentration an der Endplatte erhöht, verstärkt die Depolarisation und damit die Lähmung. Paradoxerweise kann dafür Tubocurarin diesen Block beheben, indem es die Depolarisierung verkleinert (Burns, Delisle und Paton [1951]).

Botulinus Toxin blockiert die Nerv-Muskel-Überleitung durch toxische Wirkung auf die myelinfreien Nervenendungen, wodurch die Freisetzung von Acetylcholin bei der Erregung der Nervenfasern verhindert wird. Es steht daher zu wenig Acetylcholin für die Muskelkontraktion zur Verfügung (Burgen, Dickens und Zatman [1949]).

Mit einer einfachen Methode ist es möglich zu entscheiden, welche der beschriebenen Mechanismen für eine Substanz mit Curarewirkung verantwortlich ist.

Der M. rectus abdominis von Fröschen in einem Ringer-Bad (50 ml unter Sauerstoffzufuhr, 20° C) aufgehängt kontrahiert sich, sobald Acetylcholin (25  $\gamma$ ) dazu gegeben wird. Nach mehrmaligem Spülen des Organbades erschlafft der Muskel innerhalb 20–30 Minuten wieder vollständig. Die Kontraktionshöhe ist für die gleiche Acetylcholinmenge bei mehreren Wiederholungen konstant. Wenn dem Bad vorausgehend Tubocurarinlösung zugesetzt wird, bleibt die Verkürzung aus oder ist deutlich verkleinert. Die maximal mögliche Kontraktion wird oft erst in 15–20 Minuten erreicht.

*Tubocurarin* hat dementsprechend auch am isolierten Muskel eine hemmende Wirkung auf die Acetylcholincontraktion, die quantitativ ausgetestet werden kann (*García de Jalón* [1947], *Torda und Wolff* [1947]), *Decamethonium* führt demgegenüber zu einer Kontraktion des *M. rectus*, d. h. die Acetylcholinwirkung wird verstärkt, und *Botulinus Toxin* sollte die Muskelcontraktionen durch Acetylcholin nicht beeinflussen.

Alle von uns geprüften Calebassenalkaloide (Toxiferin, Curarin, Calebasin, C-Alkaloide A, D, E, F, G, I, L) wirken bei der Versuchsanordnung prinzipiell gleich wie *Tubocurarin*. Die registrierten Kontraktionen werden nach Zugabe einer bestimmten Alkaloidmenge kleiner, und es braucht oft mehrmaliges Zusetzen von Acetylcholin und wieder Auswaschen, bis die ursprüngliche Höhe wieder erreicht ist (Abb. 41). Mit 0,2  $\gamma$  Toxiferin (Konz.  $4 \cdot 10^{-9}$ ) wird der Muskel zur Hälfte, mit 0,5  $\gamma$  (Konz.  $10^{-8}$ ) vollständig gelähmt. Es braucht im ersten Fall 3maliges Zusetzen und Auswaschen der Acetylcholintestdosis (25  $\gamma$ ), bis sich der Muskel völlig erholt hat. Man kann auch durch mehrmaliges Zugabe dieser Dosis ohne Auswaschen zur alten Kontraktionshöhe kommen: bei 0,5  $\gamma$  Toxiferin braucht es z. B. 4mal 25  $\gamma$ , bis sich der *M. rectus* gleich stark wie vorher verkürzt, so daß 75% des Acetylcholins antagonisiert sind.

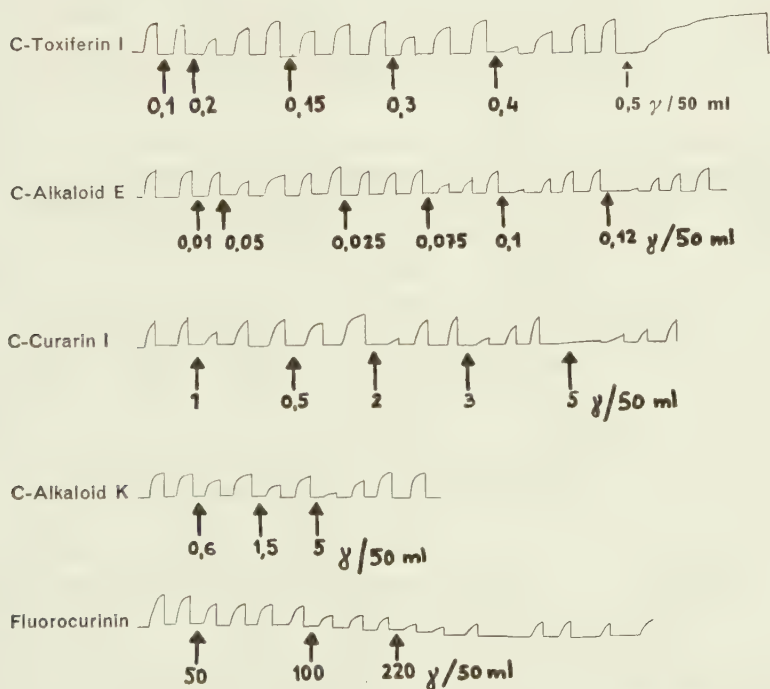


Abb. 41. Acetylcholinantagonismus am *M. rectus abdominis* des Frosches. Die Kontraktionen werden mit 25  $\gamma$  Acetylcholin/50 ml Badflüssigkeit ausgelöst.

*Paton und Perry* (1951) haben aus analogen Versuchen für einige «Toxiferine»  $pA_2$  (negativer Logarithmus der Alkaloidkonzentration, die 50% Hemmung des Acetylcholins bewirkt, *Schild* [1947]) zwischen 8 und 9 bestimmt. Dieser Wert ist mit der Atropinwirkung gegenüber Acetylcholin am Meerschweinchenileum ( $pA_2 = 8,3$ ) vergleichbar, was die starke Wirkung dieser Curarealkaloide demonstriert. Nach unserer Bestimmung ist  $pA_2$  für Toxiferin I = 8,5. Die Badkonzentration für 50% Lähmung des Muskels, aus der Kontraktionshöhe bestimmt, gibt beinahe den gleichen Wert ( $4 \cdot 10^{-9}$ ), so daß wir zum Vergleich des Acetylcholinantagonismus diese Konzentrationen für die einzelnen Alkaloide angeben:

Tabelle 10

| Alkaloid      | Badkonzentration für  |                     |
|---------------|-----------------------|---------------------|
|               | 50%ige Lähmung        | totale Lähmung      |
| C-Alkaloid E  | $1 \cdot 10^{-9}$     | $3 \cdot 10^{-9}$   |
| C-Toxiferin I | $4 \cdot 10^{-9}$     | $10^{-8}$           |
| C-Alkaloid G  | $1 \cdot 10^{-8}$     | $2 \cdot 10^{-8}$   |
| C-Curarin I   | $2 \cdot 10^{-8}$     | $10^{-7}$           |
| C-Alkaloid K  | $3 \cdot 10^{-8}$     | $1,5 \cdot 10^{-7}$ |
| C-Alkaloid I  | $6 \cdot 10^{-8}$     | $3 \cdot 10^{-7}$   |
| Calebassin    | $1 \cdot 10^{-7}$     | $1 \cdot 10^{-6}$   |
| C-Alkaloid A  | $2 \cdot 10^{-7} (?)$ | $1,5 \cdot 10^{-6}$ |
| Fluorocurinin | $2 \cdot 10^{-6} (?)$ |                     |

Die Reihenfolge nach Wirkungsstärke ist ungefähr gleich wie die der paralytischen Wirkung auf den quergestreiften Muskel. Die Interferenz mit der Ansprechbarkeit der kontraktile Muskelemente auf Acetylcholin wird dadurch erneut demonstriert. Der Wirkungsmechanismus entspricht daher der echten «Curarelähmung» des Tubocurarins.

Aus den Kurven (Abb. 41) erkennt man, daß es bei den stark wirksamen Alkaloiden mindestens viermaliges Auswaschen und dazwischen Zugeben von Acetylcholin braucht, bis das Curare vollständig verdrängt ist und sich der Muskel durch Acetylcholin wieder total verkürzt.

Für die C-Alkaloide K, I, A genügt dreimaliges Spülen, und Calebassin haftet so schwach, daß es schon nach einer Kontraktion und 2mal Lösungswechsel aus dem Präparat entfernt ist. Das gleiche haben wir am Rattendiaphragma festgestellt.

Einzig *Fluorocurinin* macht eine Ausnahme (Abb. 41). Hier kann auch mehrmaliges Auswaschen das Alkaloid nicht aus dem Muskel herauslösen, und die Acetylcholinkontraktionen bleiben konstant vermindert. Zugleich sinkt der Muskeltonus. Erst nach längerem Verweilen in der Badflüssigkeit sind wieder etwas stärkere Verkürzungen wahrnehmbar. Leider fehlte uns gerade von diesem Alkaloid, das zudem nur schwach wirksam ist, eine größere Menge, um diese Unterschiede abzuklären.

*Van Maanen* (1950) hat aus diesem Antagonismus zwischen Acetylcholin und einigen Curarealkaloiden (C-Curarin, Calebassin [— «C-Toxiferin II»], d-Tubocurarin,  $\beta$ -Erythroidin) Konstanten berechnet, aus denen die relative Wirkungsstärke hervorgeht. Da die Dosiswirkungskurve des Acetylcholins am Froschrectus ohne Formveränderung entlang der Dosisachse verschoben wird, muß es sich um einen kompetitiven Antagonismus bei einer pseudomonomolekularen Reaktion an der Rezeptorsubstanz mit Acetylcholin oder Curarealkaloid handeln. Die Gleichgewichtskonstante dafür ist aus den Massenwirkungsgesetzen zu berechnen.

### Diskussion

Auf Grund der pharmakologischen Untersuchungen erscheinen die Berichte der ersten Augenzeugen über die rasche und enorme Wirksamkeit von Calebassencurare nicht mehr unglaublich, muß doch eine Verletzung und Kontakt mit relativ kleinen Mengen dieser aktivsten aller bekannten Alkaloide rasch zu vollständiger *Lähmung* und Tod durch Atmungsstillstand führen. Diese Wirkung ist bei ganz verschiedenen Tieren, Kalt- und Warmblütern, regelmäßig zu erreichen. Allerdings bestehen speciesbedingte Unterschiede, indem die Empfindlichkeit in der Reihenfolge Katze-Kaninchen-Maus abnimmt, was beim Tubocurarin gerade umgekehrt ist. Auch der Antagonismus zu Prostigmin ist mengenmäßig für Kaninchen und Katzen verschieden. Die Katze braucht zur Aufhebung der Lähmung relativ mehr Prostigmin. Da der Mensch in der Reaktionsfähigkeit auf Curarealkaloide am ehesten der Katze gleicht, ist auch bei ihm eine intensive Wirkung zu erwarten.

Nach den aufgenommenen Rheobasenkurven (Abb. 36) verursachen Toxiferin und Calebassin wahrscheinlich eine *Tonusverminderung*, die bei Curarin nicht deutlich ist. Besonders bei höheren Tieren (Kaninchen, Katze, Hund) hat Toxiferin eine lang anhaltende «lissive» Wirkung, die bei therapeutischer Verwendung wertvoll sein kann.

Daß die *Atmungsmuskulatur* bei einzelnen Alkaloiden im Katzenversuch vor der Beinmuskulatur gelähmt wird, beruht eventuell auf einer größeren Sensitivität der Endplatten. Wir möchten aber auch hier erneut die Frage erheben, ob neben den bekannten stimulierenden Effekten der direkt in die Gehirnventrikel gebrachten Lösungen nicht auch zentrale Hemmwirkungen, wie vielleicht hier auf die Atmung, möglich sind. Die Atmungslähmung scheint bei unserer Versuchsanordnung auch häufig früher einzutreten als die periphere Muskellähmung, da diese mit elektrischer Nervenreizung geprüft wird. Nach *Vulpian* wird die willkürliche Bewegung bei fortschreitender Curarisierung vor der elektrisch-nervösen Muskelirritabilität getroffen, die noch einige Zeit erhalten sein kann. Zudem ist bei Anoxämie oft eine gesteigerte Irritabilität zu beobachten (s. später).

In unsern Versuchen haben wir nie eine *Bronchokonstriktion* festgestellt, besonders nicht nach Toxiferin oder Curarin in Hunderversuchen mit einer

modernen Narkoseapparatur. Bei plötzlicher Verminderung des Atemvolumens muß immer an diese Komplikation gedacht werden. Frühere Untersuchungen (*Landmesser* [1947]) mit plethysmographischen Bronchialvolumenmessungen haben solche Nebenwirkungen für zahlreiche Alkaloide (Tubocurarinchlorid, Curarinchlorid, Chinin-Methochlorid) demonstriert. Da die Schockwirkung durch Pyribenzamin oder Benadryl verhindert wird, kann sie Folge einer Histaminfreisetzung im Gewebe sein.

Zahlreiche Calebassenalkaloide bewirken neben der Lähmung mehr oder weniger deutliche *Blutdruckabfälle*. Ursache ist eine Hemmung in der synaptischen Erregungsübertragung des vegetativen Systems, die nach höheren Dosen analog der Endplattenlähmung immer eintritt und eine Rückwirkung auf die Kreislaufregulation hat. Die Stärke dieses Effektes scheint mit dem chemischen Konstitutionstypus (Indolringsystem?) zusammenzuhängen (vgl. verschiedene konstitutionelle Gruppen).

Nur die stark wirksamen Alkaloide E, G, H und besonders Toxiferin lassen den Druck unverändert, da sie eine weitgehende Elektivität in ihrem Angriffspunkt zeigen. Ihre Ganglionblockade (gemessen am Ganglion cervicale cranialis) tritt erst bei einer 12–80fachen Überdosierung ein, was eine genügende therapeutische Breite zur Vermeidung von Kreislaufwirkungen ergibt. Die Blutdrucksenkung nach Tubocurarin geht ebenfalls der sympathischen Ganglionhemmung parallel und kann durch Prostigmin verhindert werden (*Erdmann und Mercker* [1952]). Sie tritt nach einer 10fach höheren Dosis, als zur Lähmung notwendig ist, ein. Neben dem sympathischen Teil des autonomen Nervensystems wird auch der parasympathische Anteil gelähmt, was in einer Blockierung von Vagusreizen für die Herzmotorik zum Ausdruck kommt.

Wir haben besonders bei Curarin diese Lähmungswirkungen im autonomen System festgestellt (Abb. 24). Bei den meisten Alkaloiden braucht es zur Hemmung parasympathischer Ganglien größere Dosen als zur sympathischen Blockade. Für die genaue Feststellung dieser Wirkungen sollte die Reizung der autonomen Nerven innerhalb eines großen Frequenzbereiches abgestuft erfolgen (*Erdmann und Mercker* [1952]). Unsere Versuchsergebnisse, die umständehalber mit einem gewöhnlichen Funkeninduktorium gewonnen wurden, haben daher nicht absolut quantitativen Charakter und dienen eher zum relativen Vergleich.

Die *Blutdrucksenkung* kann aber auch teilweise durch die Freisetzung von *Histamin* oder anderen Schocksubstanzen aus dem Gewebe bedingt sein, besonders wenn sie bei Dosen eintritt, die noch keine ganglionäre Lähmung bewirken. Nach *Erdmann und Mercker* (1952) hebt Prostigmin die Blutdrucksenkung nach Tubocurarin auf, nicht aber diejenigen nach Histamin, was gegen eine solche Ursache spricht. Bei mit C-Alkaloiden G und A curarisierten Tieren konnten wir einen ähnlichen blutdrucksteigernden Effekt des Prostigmin beobachten, der nach Curarin oder C-Alkaloid A meistens fehlte. Auch dies scheint darauf hinzuweisen, daß einzelne Nebenwirkungen

dieser Curarestoffe durch Histamin oder ähnliche Substanzen bedingt sind.

Die *Resorption* von Curarin ist auch aus dem Magen-Darm-Trakt möglich. Die Lähmungsdosis ist etwa 100mal größer als bei intravenöser Injektion und rund 10mal größer als nach subcutaner Verabreichung. Infolge der großen Alkaloiddepots, die langsam resorbiert werden, dauert die Lähmung längere Zeit.

Bei der Untersuchung der *Verteilung* von Radiocurarin in der Katze fiel vor allem auf, wie wenig Alkaloid der Muskel im Lähmungszustand enthält. Obwohl die Gesamtmuskulatur (quergestreift) 30% des Körpergewichts beträgt, sind nur 12–16% der Injektionsdosis darin enthalten, gegenüber der Leber (2–2,5% Gewicht) mit 17–30% und den Nieren (0,3–0,5% Gewicht) mit 3–10% der gesamten Aktivität. Das Alkaloid greift in der Endplattenregion konzentriert an. Die genaue Lokalisation ist uns vorderhand noch nicht bekannt, doch können wir vielleicht aus den chromatographisch ermittelten Verteilungskonstanten der einzelnen Alkaloide einige Eigenschaften der Fixationsstelle erkennen.

Wir stellten fest, daß die Curarisierungsfähigkeit mit Kleinerwerden der  $R_C$ -Werte (Wanderungsgeschwindigkeit im Durchlaufchromatogramm verglichen mit Curarin) zunimmt, was einer Anreicherung in der wässrigen gegenüber der organischen Phase gleichkommt.

Dieses Verhalten steht im Gegensatz zur Lipoidtheorie von *Overton*, bei der organische Substanzen entsprechend ihrer Lipoidlöslichkeit permeieren. Es scheint zur Durchdringung der Membran, besonders auch der lipoidhaltigen Nervenzellen, die gute Verteilungslöslichkeit in einem organischen, fettähnlichen Lösungsmittel (z. B. in Olivenöl als geeigneter Modells substanz) gegenüber Wasser notwendig zu sein. Die Permeabilität von lipoidschwerlöslichen Substanzen wie Harnstoff wird mit dem kleinen Molekulargewicht erklärt, das die Durchdringung auch von kleinen Membranporen erlaubt.

Bei den hier untersuchten Alkaloiden handelt es sich ausnahmslos um Verbindungen mit großem Molekulargewicht und ausgezeichneter Wasserlöslichkeit. Die Wirkungsintensität nimmt mit steigender relativer Wasserlöslichkeit sogar zu. Dies läßt uns vermuten, daß diese Alkaloide wohl kaum durch lipoidhaltige Membranen durchtreten, sondern in einem wasserhaltigen Reaktionsraum, z. B. in einer Schicht zwischen Endplatte und Myofibrillen, zur Wirkung kommen. Möglicherweise ordnen sie sich als monomolekulare Schicht auf der Membran an, indem die hydrophilen Gruppen gegen die wässrige Phase gerichtet sind.

Die *Fixation* am isolierten Zwerchfellmuskel ist nicht stark. Schon einmaliges Auswaschen genügt, um die Hauptmenge von Toxiferin, Curarin oder Calebassin zu entfernen, so daß sich der Muskel scheinbar wieder normal kontrahiert. Kumulations- und Passageversuche ergaben, daß von der dem Bad zugegebenen Alkaloidmenge 3–7% aufgenommen werden. Das durchschnittlich etwa 2 g schwere Zwerchfellpräparat (wovon 0,5–0,7 g

Zwerchfellmuskel) enthält demnach in 100 ml Badlösung eine rund 5–10fach größere Alkaloidmenge, als der Verteilung im gesamten in- und extracellulären Wasser entspricht. Nach Spülen bleiben noch 0,2–0,7% fixiert, wodurch geringe Kumulation mit Veränderung der Lähmungsform möglich ist. Die Konzentrierung am Wirkungsort scheint bedeutend zu sein.

Aus dem Antagonismus gegenüber Acetylcholin am *M. rectus abdominis* von Fröschen geht der *Wirkungsmechanismus* der untersuchten Calebassenalkaloide klar hervor. Gleich wie beim Tubocurarin wird die depolarisierende Wirkung des Acetylcholins vermindert, so daß die Muskeleerregung ausbleibt. Prostigmin ist als cholinesterasehemmender Stoff immer ein wirksames Antidot. Durch tetanische Reizung des Nerven wird so viel Acetylcholin (und Kalium?) an den Endplatten freigesetzt, daß die Paralyse für kurze Zeit zurückgeht. Ähnlich wirkt Anoxie, vielleicht durch Hemmung der lokalen Cholinesterase oder, was wahrscheinlicher ist, durch erhöhte Ansprechbarkeit der Synapsen (Depolarisation, Erhöhung des extracellulären Kaliums). Es handelt sich daher um *echte Curarelähmung*.

Die *Ausscheidung* geht zur Hauptsache über die Nieren. Große Alkaloidmengen werden in kurzer Zeit unverändert wieder ausgeschieden (in 3 Stunden ca. 30% Curarin, in 6 Stunden 90%, Toxiferin). Daneben sind besonders Leber und Galle nach Injektion von Radiocurarin stark radioaktiv, so daß Abbau oder Koppelung im Leberstoffwechsel und Ausscheidung mit der Galle möglich sind. Der Kot enthält nur Spuren von Radioaktivität. In der Ausatemungsluft fanden wir sehr wenig radioaktives CO<sub>2</sub>, das maximal 0,5% injiziertem Curarin entsprach. Toxiferin und die C-Alkaloide E, G und H werden rasch und ohne Störung eliminiert. Nach größeren Dosen Curarin und C-Alkaloid K tritt häufig ein partieller Shunt der Nierengefäße in der Rinden-Mark-Grenze auf. Nach einigen Stunden löst er sich, und die Ausscheidung wird wieder besser.

### Zusammenfassung

Aus Calebassenmaterial (in Calebassen und Tontöpfen) vom *Orinoko-* und *Amazonasgebiet* wurden 22 Alkaloide, davon 14 erstmalig, durch Chromatographie an Cellulosepulver rein isoliert. Farbreaktionen, Ultraviolett-spektren und teilweiser Abbau lassen für die meisten ein Indolringsystem, vielleicht mit Strychninähnlichkeit, vermuten. Als Stammpflanzen sind bis jetzt *Strychnos toxifera* und *Strychnos Mitscherlichii* erkannt worden.

19 dieser Alkaloide konnten *pharmakologisch* eingehend untersucht werden. Bei 7 stand die außerordentliche Lähmungswirkung im Vordergrund, die zum Teil bedeutend stärker (bis 250mal) als die des Tubocurarins ist. Die Lähmung dauert bei diesen Alkaloiden sehr lang. Sie können kumulieren. Für die weniger wirksamen ist sie kurz. Die Atmungslähmung tritt oft vor der vollständigen peripheren Muskellähmung ein. Prostigmin war bei allen Alkaloiden ein wirksames Antidot. Es handelt sich nach dem Wirkungsme-

chanismus um Substanzen mit typisch curareartiger Wirkung. Durch Lähmung am autonomen Nervensystem kann der Blutdruck bei einzelnen Alkaloiden für kurze Zeit absinken. Weitere Kreislaufstörungen (Frequenz, Ekg.) fehlen.

Die Resorption aus einem intramuskulären oder subcutanen Depot verläuft rasch. Sie ist auch enteral möglich. Die Ausscheidung erfolgt zur Hauptsache unverändert im Urin. Daneben ist die Galle alkaloidreich, so daß ein Abbau in der Leber wahrscheinlich ist. Bei wenigen Alkaloiden kann vorübergehend ein partieller Nierenschunt eintreten.

Die besten pharmakologischen Kenntnisse besitzen wir heute über Toxiferin, Curarin, Calebassin und die C-Alkaloide K, H, E, G, A. Allen voran ist *Toxiferin* von größter Wirksamkeit und ohne Nebenwirkungen, so daß die Verwendung in der Humanmedizin für langdauernde Lähmung möglich ist. *C-Curarin* ist mit Tubocurarin vergleichbar: Es wirkt stärker, hat aber auch Blutdrucksenkung zur Folge. Nach höheren Dosen kann die Elimination (Shunt) gestört sein. *Calebassin* lähmt nur kurz mit Blutdrucksenkung. Die Alkaloide *E* und *G* sind Toxiferin in der Wirkungsstärke überlegen und haben große Selektivität für die Endplatten. Vereinzelt können Blutdruckabfälle auftreten. Vor einer Verwendung muß der Aktivitätsabfall der Lösungen abgeklärt werden. Von den übrigen Alkaloiden ist besonders *H* wirksam, gut selektiv und leicht eliminierbar. *K* ist ähnlich wie *B* bei der Lähmungsdosis blutdrucksenkend und wird langsam (Shunt) ausgeschieden.

### Résumé

On a isolé par chromatographie sur poudre de cellulose 22 alcaloïdes à l'état pur, dont 14 pour la première fois, à partir du curare de calebasse (en calebasses et en pots) provenant des bassins de l'*Orénoque* et de l'*Amazonie*. Les réactions colorées, les spectres dans l'ultraviolet ainsi que les dégradations partielles permettent de supposer qu'il s'agit pour la plupart de dérivés indoliques, ayant peut-être une analogie avec la strychnine. Comme source végétale, on a actuellement identifié le *Strychnos toxifera* et le *Strychnos Mitscherlichii*.

19 de ces alcaloïdes ont été soumis à un examen *pharmacologique* approfondi. Chez 7 d'entre eux l'action paralysante s'affirme particulièrement, étant quelquefois nettement plus intense (jusqu'à 250 fois) que celle de la tubocurarine. La paralysie provoquée par ces alcaloïdes est de très longue durée, leur action pouvant être cumulative; par contre, elle est brève avec les moins actifs. La paralysie des centres respiratoires se produit souvent avant la paralysie musculaire périphérique. La prostigmine est pour tous un antidote actif. Ces alcaloïdes sont des composés dont le mécanisme d'action est typiquement du genre curare. Chez certains d'entre eux, en raison d'une paralysie du système nerveux autonome, la pression sanguine peut baisser passagèrement. On n'observe pas d'autres troubles (fréquence, ECG) de la circulation.

La résorption d'un dépôt intramusculaire ou sous-cutané se fait rapidement. Elle est également possible par voie entérale. La plus grande partie s'élimine sans changement dans l'urine. Par ailleurs, la bile est riche en alcaloïdes, ce qui laisse supposer une dégradation par le foie. Avec un petit nombre de ces alcaloïdes il peut se produire passagèrement un «shunt» partiel des reins.

Les meilleures connaissances pharmacologiques que nous avons à ce jour concernent la toxiférine, la curarine, la calebassine et les C-alcaloïdes K, H, E, G et A. Parmi eux, la *toxiférine* possède la plus grande activité sans action secondaire, rendant possible son utilisation en médecine humaine pour l'obtention de paralysies de longue durée. La *curarine* peut être comparée à la tubocurarine: elle a une action plus forte, mais produit en même temps une baisse de la pression sanguine. A la suite de doses élevées, il peut se produire un trouble d'élimination (shunt). L'action paralysante de la *calebassine* est courte et liée à une chute tensionnelle. Les alcaloïdes E et G ont une activité plus intense que celle de la toxiférine avec une grande sélectivité pour les plaques terminales motrices. Il se produit parfois une baisse de la pression sanguine. Avant de pouvoir les utiliser, on devra éclaircir la question de la diminution d'activité des solutions. Parmi les autres alcaloïdes, H est particulièrement actif avec une bonne sélectivité et s'élimine facilement. K, ainsi que B, exerce aux doses paralysantes une action hypotensive et n'est que lentement éliminé (shunt).

### Summary

By means of chromatography, 22 alkaloids from calabash material of the *Orinoco* and *Amazonas* region were isolated; of these 14 have been obtained for the first time.

Colour reactions, UV-spectra and partial deductive analysis point towards an 'Indol-ring-system' with a certain similarity to strychnine. *Str. toxifera* and *Str. Mitscherlichii* have so far been recognized as parent plants.

19 alkaloids have been studied extensively as to their *pharmacological properties*. 7 have an outstanding paralytic action, which is with some of them far greater (250 times) than that of d-tubocurarinechloride. Paralysis in these cases endures for a long time. Accumulation of the drug in the system is sometimes observed. The less active alkaloids produce shorter periods of paralysis.

Prostigmine proved its antidote-action with all alkaloids.

In general we found the mode of action of the substances to be typically "curare-like". By paralysis of the autonomic nervous system, a lowering of the blood pressure may result in some cases. Other circulatory disturbances (puls-frequency, ECG), however, were missing.

Absorption from an intramuscular or subcutaneous deposit proved rapid. It can also be effected internally. For its greatest part the alkaloid is eliminated unchanged through the urine. The bile was also found to contain

considerable amounts of alkaloid, which may have undergone a change in the liver. A few of the alkaloids produce a partial, short-lived shunt of the kidneys.

Up to the present, the most extensive pharmacological study has been made of toxiferine, curarine, calabassine, and the C-alkaloids K, H, E, G and A. Leading all alkaloids by its great activity and lack of secondary symptoms, *C-Toxiferine I* may eventually be introduced into human medication. As compared to d-tubocurarinechloride, though it is more active, *C-Curarine I* may also produce a lowering of blood pressure. High doses may affect the elimination (shunt). *Calabassine* produces a short paralysis with lowering of blood pressure. The alkaloids *E* and *G* show an even greater activity than toxiferine and good selectivity for motor-end-plates, even though a lowering of blood pressure is but rarely observed. The reason, however, for their rapid loss of activity when in solution, has yet to be investigated.

Of the remaining alkaloids, *H* was found to be especially active, adequately selective and readily eliminated. *K*, like *B*, effects a lowering of blood pressure simultaneously with its paralytic action and is slowly eliminated.

### Resumen

Han sido aislados por cromatografía en papel 22 alcaloides de calabazas de curare de la región del *Orinoco* y *Amazonas*; 14 de los cuales han sido obtenidos por primera vez.

Reacciones de color, espectrografía en luz ultra-violeta y un análisis parcial nos hacen suponer un sistema de anillo Indol con cierta similitud con Estricnina. *Str. toxifera* y *Str. Mitscherlichii* han hasta hoy sido reconocidos como plantas madres.

Diecinueve de estos alcaloides fueron estudiados a fondo en relación a sus *propiedades farmacológicas*. Siete de ellos tienen una acción paralítica excepcional; algunos excediendo con mucho (250 veces) la acción del cloruro de d-Tubocurarin. La parálisis dura mucho. Algunos de los alcaloides pueden producir acumulación. Los menos activos de ellos también tienen un período mas corto de parálisis. La parálisis de la respiración se efectúa en la mayoría de los casos antes de ser afectado el musculo periférico.

Prostigmina daba prueba de su eficacia como antídoto con todos los alcaloides.

El modo de acción de las 19 sustancias era siempre típico del curare en general. Debido a una parálisis del sistema nervioso autonómico fue observada una reducción de la presión sanguínea en algunos casos. Otros disturbios de la circulación (frecuencia de pulso, ECG) faltaban por completo.

La resorcpción de los alcaloides por vía intramuscular o subcutánea se efectúa rápidamente. También se puede producir por vía interna. Se eliminan en la mayor parte por el sistema urinario sin aparentemente cambiar su constitución. Como también encontramos una cantidad suficiente de alca-

loide en la bilis, hay que suponer que una descomposición de la substancia se efectúa en el hígado. Algunos de los alcaloides producen un «shunt» de los riñones de poca duración.

Hasta ahora el conocimiento farmacológico mas profundo lo tenemos de los alcaloides Toxiferina, Curarina, Calebasina y los C-alkaloides K, H, E, G y A.

A la cabeza de todos está la *Toxiferina*, siendo éste el alcaloide con mas acción paralítica y sin síntomas secundarios; mas adecuado, por consecuencia, para ser introducido en la medicina humana. La *Curarina* se puede comparar al cloruro de d-Tubocurarin; tiene mas actividad, pero como aquel, puede ir acompañado de una pérdida de presión de sangre. Dosis altas pueden tener influencia sobre la eliminación (shunt). La *Calebasina* produce una parálisis que dura poco tiempo, con reducción de presión de sangre.

Los alcaloides *E* y *G* muestran una actividad aún mas intensa que la de la Toxiferina y una buena selectividad para los «motor-end-plates». En muy pocos casos ocurre una reducción de presión sanguínea. Sin embargo, hay que aclarar la razón de la rápida pérdida de actividad de estos dos alcaloides, una vez que se encuentren en solución.

De los demás alcaloides se distingue *H* por ser activo, selectivo y fácilmente eliminado. *K* como tambien *B* producen una parálisis acompañada de pérdidas de presión de sangre y se eliminan lentamente.

*Bernard C. et Pelouze T. J.*: C. r. de l'Académie des Sciences **31**, 533 (1850); **43**, 825 (1856); Leçons sur les effets des substances toxiques et médicamenteuses. Paris 1857, p. 305.

*Boehm R.*: Heffters Hdb. exper. Pharmacol. II/1, S. 179. Springer Verlag, Berlin 1920.

*Boyd T. E. and Brosnan J. J.*: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **35**, 404-405 (1936).

*Brocklesby R.*: Phil. Trans. roy. Soc. Lond. **44**, 408 (1747).

*Brodie B.*: Phil. Trans. roy. Soc. Lond. **101**, 78 (1811).

*Bülbring E.*: Brit. J. Pharmacol. **1**, 38-61 (1946).

*Burgen A. S. V., Dickens F. and Zatman L. J.*: J. Physiol. (Brit.) **109**, 10 (1949).

*Burns B. D., Delisle B., and Paton W. D.*: XVIII. Int. Physiol. Congress, Copenhagen 1950, S. 136.

*Chase H. F., Schmidt J. L. and Bhattacharya B. K.*: J. Pharmacol. (Am.) **91**, 236-245 (1947).

*Chauchard B. und P.*: C. r. Soc. Biol. **143**, 227-228 (1949).

*Collier H. O. J., Fieller E. C. and Hall R. A.*: Analyst **74**, 583-588 (1949).

*Collier H. O. J., Hall R. A. and Fieller E. C.*: Analyst **74**, 592-596 (1949).

*Condamine de la*; in: Didot: Histoire générale des voyages. Paris 1757.

*Corelli D.*: Schweiz. med. Wschr. **80**, 552-554 (1950).

*Courvoisier S. et Ducrot R.*: C. r. Soc. Biol. **142**, 1209-1212 (1948).

*Dutcher J. D.*: J. amer. chem. Soc. **68**, 419-424 (1946); Ann. Acad. New York of Sciences **54**, 326-336 (1951).

*Eichholtz F. und Taugner R.*: Pflügers Arch. **254**, 267-271 (1951).

*Erdmann W. D. und Mercker H.*: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **214**, 455-463 (1952); **216**, 563-575 (1952).

*Feldberg W.*: Brit. med. J. **1951**, 967-977.

*Feitelberg S. and Pick E. P.*: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **49**, 654-656 (1942).

- Fischer H., Huber P. und Langemann H.: *Helv. Physiol. Acta* **9**, 416–437 (1951).
- Fontana F.: *Sur les poisons et sur le corps animal*. Florence 1781.
- Fréise F. W.: *Pharmaz. Zeitg.* **78**, 852–853 (1933); **81**, 241, 818 (1936).
- Garcia de Jalón P. D.: *Quart. J. Pharmacy a. Pharmacol.* **20**, 28–30 (1947).
- Grob D., Lilienthal J. B. and Harvey A. M.: *Bull. J. Hopkins Hosp., Baltim.* **80**, 299 (1947).
- Gysling F.: *Dissertation*, Zürich 1953.
- Herrissant M.: *Phil. Trans. roy. Soc. Lond.* **47**, 75 (1751/52).
- Hotovy R.: *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **207**, 586–593 (1941).
- Karrer P., Eugster C. H. und Waser P.: *Helv. Chim. Acta* **32**, 2381–2385 (1949).
- Karrer P. und Schmid H.: *Helv. Chim. Acta* **29**, 1853–1870 (1946).
- Karrer P. und Waser P.: *Helv. Chim. Acta* **32**, 409–423 (1949).
- Kebler J., Schmid H., Waser P. und Karrer P.: *Helv. Chim. Acta* **36**, 102–121 (1953).
- Kebler J., Schmid H., Waser P. und Karrer P.: *Helv. Chim. Acta* **36**, 345–349 (1953).
- Kibjakow A. W.: *Pflügers Arch.* **223**, 432–443 (1933).
- King H.: *J. chem. Soc.* **1935**, 1381–1389; **1937**, 1472–1482; **1939**, 1157–1164; **1940**, 737–746; **1947**, 936–937; **1949**, 955–958, 3263–3270; *Nature (Brit.)* **135**, 469–470 (1935).
- Kölliker A.: *C. r. de l'Académie des Sciences* **43**, 791 (1856); *Virchows Arch.* **10**, 3 (1856); *Z. wissenschaftl. Zool.* **9**, 434 (1858).
- Landmesser C. M.: *Anaesthesiology* **8**, 506–523 (1947).
- Lapique L. und M.: *C. r. Soc. Biol.* **141**, 468–469 (1947).
- Leitner J. und Steinlin H.: *Arch. Kreisl.forsch.* **13**, 62–96 (1943).
- Levin L.: *Die Pfeilgifte*. Verlag J. A. Barth, Leipzig 1923.
- Li T. H., Jacobs B. R. and Aviado D. M. jr.: *J. Pharmacol. (Am.)* **101**, 22 (1951).
- Maanen E. F. van: *J. Pharmacol. (Am.)* **99**, 255–264 (1950).
- Marrazzi A. S., Hart E. R. and King E. E.: *J. Pharmacol. (Am.)* **101**, 25 (1951).
- Marsh D. F.: *Ann. New York Acad. of Sciences* **54**, 307–325 (1951).
- Marsh D. F. and Herring D. A.: *J. Pharmacol. (Am.)* **101**, 26 (1951).
- McGuigan H.: *J. Pharmacol. (Am.)* **8**, 471–477 (1916).
- McIntyre A. R.: *Curare, its History, Nature and Clinical Use*. Univ. of Chicago Press, Chicago 1947.
- Morishima K.: *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **42**, 28–48 (1899).
- Nordenfellt O.: *Nord. Med. (Schwd.)* **13**, 493–509 (1942).
- Paton W. D. M. and Perry W. L. M.: *Brit. J. Pharmacol.* **6**, 299–310 (1951).
- Pick E. P. and Unna K.: *J. Pharmacol. (Am.)* **83**, 59–70 (1945).
- Raaflaub J. und Wilbrandt W.: *Helv. Physiol. Acta* **8**, 44–51 (1950).
- Reid G.: *Nature (Brit.)* **165**, 320–321 (1950).
- Riker W. F. jr and Wescoe W. C.: *J. Pharmacol. (Am.)* **88**, 58–66 (1946).
- Salama S. and Wright S.: *Brit. J. Pharmacol.* **5**, 49–61 (1950); **6**, 459–470 (1951).
- Santesson C. G.: *Skand. Arch. Physiol. (D.)* **40**, 266–284 (1920).
- Schild H. O.: *Brit. J. Pharmacol.* **2**, 189–206 (1947).
- Schlittler E. und Hohl J.: *Helv. Chim. Acta* **35**, 29–45 (1952).
- Schmid H., Ebnöther A. und Karrer P.: *Helv. Chim. Acta* **33**, 1486–1493 (1950).
- Schmid H. und Karrer P.: *Helv. Chim. Acta* **30**, 1162–1171 (1947); **30**, 2081–2091 (1947); **33**, 512–515 (1950).
- Schmid H., Kebler J. und Karrer P.: *Helv. Chim. Acta* **35**, 1864–1879 (1952).
- Schmid H., Schmid K., Waser P. und Ebnöther A.: *Helv. Chim. Acta* **34**, 2042–2044 (1951).
- Skinner H.: *J. Pharmacol. (Am.)* **91**, 144–146 (1947).
- Smith S. M., Brown H. O., Toman J. E. P. and Goodman L. S.: *Anaesthesiology* **8**, 1–14 (1947).
- Stern L. und Rothlin E.: *Arch. Sc. Phys. Nat. Suppl.* **11–19**, **4**, 45 (1918).

- Tillie J.*: J. Anat. a. Physiol. **24**, 379–406, 509–516 (1890); **25**, 41–59 (1891); **28**, 96–106 (1894).
- Torda C.* and *Wolff H. G.*: J. Labor. a. clin. Med. (Am.) **32**, 1374–1377 (1947).
- Trueta J.*, *Barcley A. E.*, *Daniel P. M.*, *Franklin K. J.* and *Prichard M. M. L.*: Studies of the Renal Circulation. Blackwell Scientific Publications, Oxford 1947.
- Van Slyke D. D.*, *Plazin J.* and *Weisiger J. R.*: J. biol. Chem. (Am.) **191**, 299–304 (1951).
- Varney R. F.*, *Linegar C. R.* and *Holaday H. A.*: J. Pharmacol. (Am.) **97**, 72–83 (1949).
- Virchow R.* und *Münter J.*, in Rich. Schomburgks Reisen in Britisch Guiana, Leipzig 1848.
- Waser P.*: Helv. Physiol. Acta **7**, 493–497 (1949); **8**, 342–350 (1950).
- Waser P.*, *Schmid H.* und *Schmid K.*: Arch. int. Pharmacodyn. (im Druck).
- Waterton C.*: Wanderings in South America. London 1879.
- Wieland H.*, *Bähr K.* und *Witkop B.*: Annalen d. Chemie **547**, 156–179 (1941).
- Wieland H.*, *Konz W.* und *Sonderhoff R.*: Annalen d. Chemie **527**, 160–168 (1937).
- Wieland H.* und *Pistor H. J.*: Annalen d. Chemie **536**, 68–77 (1938).
- Wieland H.*, *Pistor H. J.* und *Bähr K.*: Annalen d. Chemie **547**, 140–155 (1941).
- Wieland H.*, *Witkop B.* und *Bähr K.*: Annalen d. Chemie **558**, 144–156 (1947).
- Wieland T.* und *Merz H.*: Chem. Ber. **85**, 731–743 (1952).
- Winterstein E.* und *Walter M.*: Helv. Chim. Acta **10**, 577–584 (1927).
- Wintersteiner O.* et *Dutcher J. D.*: Science **97**, 467–470 (1943).
- Witkop B.*: Annalen d. Chemie **556**, 103–114 (1944).
- Young D. M.* et *Lewis A. H.*: Science **105**, 368–369 (1947).



